



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106456729 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(21)申请号 201580018454.4

(72)发明人 R·格雷汉姆

(22)申请日 2015.02.06

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 岑晓东

(30)优先权数据

61/937,472 2014.02.08 US

61/971,499 2014.03.27 US

62/010,265 2014.06.10 US

62/082,013 2014.11.19 US

(51)Int.Cl.

A61K 39/00(2006.01)

A61P 25/28(2006.01)

C07K 16/18(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.10.08

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/014829 2015.02.06

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/120280 EN 2015.08.13

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

权利要求书7页 说明书64页

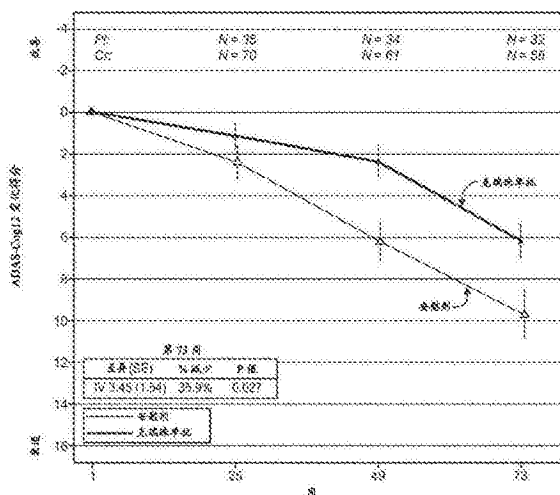
序列表5页 附图22页

(54)发明名称

治疗阿尔茨海默氏病的方法

(57)摘要

提供在罹患轻度至中度阿尔茨海默氏病(AD)的患者,包括ApoE4阳性患者和罹患轻度AD的患者中治疗AD的方法。还提供的是为用抗A β 抗体治疗选择或鉴定患者的方法。方法包括预后和/或预测生物标志物的使用。



1. 一种在罹患早期或轻度至中度阿尔茨海默氏病 (Alzheimer's Disease, AD) 的患者中治疗AD的方法,其包括以有效治疗该AD的量对罹患早期或轻度至中度AD的患者施用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔 (A β) 抗体,其中该患者具有至少一个在单核苷酸多态性 (SNP) rs1532278处包含T的簇集蛋白 (CLUSTERIN) 等位基因。

2. 权利要求1的方法,其中该簇集蛋白等位基因是其等效等位基因。

3. 权利要求1的方法,其包括在来自该患者的样品中检测多态性,其中所检测的多态性与SNP rs1532278连锁不平衡。

4. 权利要求3的方法,其中该样品是血液样品,唾液,面颊拭子,组织样品,或体液样品。

5. 权利要求1至4任一项的方法,其中通过聚合酶链式反应来检测多态性。

6. 权利要求1至4任一项的方法,其中通过测序来检测多态性。

7. 权利要求5或6的方法,其中通过选自下组的技术来检测多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳 (DGGE),时间温度梯度电泳 (TTGE),Zn (II) -轮环藤宁 (cyclen) 聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5' 核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray (单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台 (诸如侵入者 (Invader) 测定法®),单碱基引物延伸 (SBE) 测定法,PCR扩增 (例如磁性纳米颗粒 (MNP) 上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析 (RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸 (MPEX),和等温智能扩增。

8. 权利要求1至4任一项的方法,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测多态性。

9. 权利要求1的方法,其中该患者罹患轻度AD。

10. 权利要求1的方法,其中该患者罹患早期AD。

11. 权利要求9或10的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

12. 权利要求11的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

13. 权利要求1至12任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

14. 权利要求1的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1) 的残基13和24内结合。

15. 权利要求14的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

16. 权利要求15的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

17. 权利要求15或16的方法,其中该抗体包含六个高变区 (HVR),其中:

(i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

(ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

(iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

(iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

(v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

(vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

18. 权利要求17的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

19. 权利要求17的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗 (crenezumab)。

20. 权利要求1的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗 (solanezumab),巴品珠单抗 (bapineuzumab),阿达克单抗 (aducanumab) 和刚奈鲁单抗 (gantenerumab)。

21. 一种为用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔 (A β) 抗体治疗选择罹患早期或轻度至中度AD的患者的方法,其包括:

(a) 在来自该患者的样品中检测在单核苷酸多态性 (SNP) rs1532278处具有T的簇集蛋白等位基因的存在或缺失,并

(b) 当该样品中存在单核苷酸多态性 (SNP) rs1532278处的T时选择该患者为更加可能响应用人源化单克隆抗A β 抗体治疗。

22. 权利要求21的方法,其中该簇集蛋白等位基因是其等效等位基因。

23. 权利要求22的方法,其中该等效等位基因与SNP rs1532278连锁不平衡。

24. 权利要求21或22的方法,其中该样品是血液样品,唾液,面颊拭子,组织样品,或体液样品。

25. 权利要求21至24任一项的方法,其中通过聚合酶链式反应来检测多态性。

26. 权利要求21至24任一项的方法,其中通过测序来检测多态性。

27. 权利要求25或26的方法,其中通过选自下组的技术来检测多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳 (DGGE),时间温度梯度电泳 (TTGE),Zn (II)-轮环藤宁 (cyclen) 聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5' 核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray (单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台 (诸如侵入者 (Invader) 测定法®),单碱基引物延伸 (SBE) 测定法,PCR扩增 (例如磁性纳米颗粒 (MNP) 上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析 (RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸 (MPEX),和等温智能扩增。

28. 权利要求21至24任一项的方法,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测多态性。

29. 权利要求21的方法,其中该患者罹患轻度AD。

30. 权利要求21的方法,其中该患者罹患早期AD。

31. 权利要求22的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

32. 权利要求31的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

33. 权利要求21至31任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

34. 权利要求21的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1) 的残基13和24内结合。

35. 权利要求34的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

36. 权利要求35的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

37. 权利要求34或35的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:

(i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

(ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

(iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

(iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

(v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

(vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

38. 权利要求37的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

39. 权利要求3的方法7,其中该抗体是克瑞珠单抗。

40. 权利要求21的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

41. 一种鉴定罹患早期或轻度至中度AD的患者为更加可能响应用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(Aβ)抗体治疗的方法,其包括在来自该患者的样品中检测包含如下多态性的簇集蛋白等位基因的存在,该多态性预示对用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(Aβ)抗体治疗的响应。

42. 权利要求41的方法,其中该多态性是单核苷酸多态性(SNP) rs1532278处的T。

43. 权利要求41的方法,其中该簇集蛋白等位基因是包含SNP rs1532278的等位基因的等效等位基因。

44. 权利要求43的方法,其中该等效等位基因与SNP rs1532278连锁不平衡。

45. 权利要求41或42的方法,其中该样品是血液样品,唾液,面颊拭子,组织样品,或体液样品。

46. 权利要求41至45任一项的方法,其中通过聚合酶链式反应来检测该多态性。

47. 权利要求41至45任一项的方法,其中通过测序来检测该多态性。

48. 权利要求46或47的方法,其中通过选自下组的技术来检测多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳(DGGE),时间温度梯度电泳(TTGE),Zn(II)-轮环藤宁(cyclen)聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5'核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray(单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。

49. 权利要求41至45任一项的方法,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测多态性。

50. 权利要求41的方法,其中该患者罹患轻度AD。

51. 权利要求41的方法,其中该患者罹患早期AD。

52. 权利要求50的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介

于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

53.权利要求52的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

54.权利要求41至52任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

55.权利要求41的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。

56.权利要求55的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

57.权利要求56的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

58.权利要求56或57的方法,其中该抗体包含六个高变区 (HVR),其中:

(i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

(ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

(iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

(iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

(v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

(vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

59.权利要求58的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

60.权利要求59的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。

61.权利要求41的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

62.一种预测罹患AD的个体是否有可能响应包含抗A β 抗体或其抗原结合片段的治疗的方法,其包括:

(a) 在来自该个体的样品中测定SNP rs1532278处的核苷酸的身份,并

(b) 当该样品含有至少一个在SNP rs1532278处具有T核苷酸的等位基因时,预测响应包含抗A β 抗体或其抗原结合片段的治疗的可能性升高。

63.权利要求62的方法,其中该患者罹患轻度AD。

64.权利要求62的方法,其中该患者罹患早期AD。

65.权利要求62的方法,其中该患者具有范围为自20至26,自21至26,自22至26,自23至26,自24至26,或自25至26的MMSE。

66.权利要求62至65任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

67.权利要求62的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。

68.权利要求67的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

69.权利要求68的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

70.权利要求68或69的方法,其中该抗体包含六个高变区 (HVR),其中:

(i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

(ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

(iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

(iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

(v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

(vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

71. 权利要求70的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

72. 权利要求71的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。

73. 权利要求62的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

74. 一种为AD治疗优化治疗功效的方法,其包括:测定患者的基因型,其中测定为携带至少一个在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因的患者更加可能响应用抗A β 抗体或其抗原结合片段治疗。

75. 权利要求74的方法,其中该患者罹患早期或轻度AD。

76. 权利要求74的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

77. 权利要求76的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

78. 权利要求74至76任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

79. 权利要求74的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。

80. 权利要求79的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

81. 权利要求80的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

82. 权利要求80或81的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:

(i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

(ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

(iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

(iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

(v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

(vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

83. 权利要求82的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

84. 权利要求83的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。

85. 权利要求74的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

86. 一种用于测定罹患AD的患者会受益于包含抗A β 抗体或其抗原结合片段的治疗的可能性的方法,该方法包括:测定该患者的基因型,其中具有至少一个在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因的患者比不具有在SNP rs1532278处具有T核苷酸的等位基因的患者更加可能响应用抗A β 抗体治疗。

87. 权利要求86的方法,其中该患者罹患早期或轻度AD。

88. 权利要求86的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于

24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

89. 权利要求86至88任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

90. 权利要求86的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。

91. 权利要求90的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

92. 权利要求91的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

93. 权利要求91或92的方法,其中该抗体包含六个高变区 (HVR), 其中:

(i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

(ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

(iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

(iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

(v) HVR-L2是SEQ ID NO:7; 且

(vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

94. 权利要求93的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

95. 权利要求94的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。

96. 权利要求86的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

97. 权利要求74至96任一项的方法,其中该簇集蛋白等位基因是包含SNP rs1532278的等位基因的等效等位基因。

98. 权利要求97的方法,其中该等效等位基因与SNP rs1532278连锁不平衡。

99. 权利要求97或98的方法,其中该样品是血液样品,唾液,面颊拭子,组织样品,或体液样品。

100. 权利要求97至99任一项的方法,其中通过聚合酶链式反应来检测多态性。

101. 权利要求97至99任一项的方法,其中通过测序来检测多态性。

102. 权利要求100或101的方法,其中通过选自下组的技术来检测多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳 (DGGE),时间温度梯度电泳 (TTGE), Zn (II)-轮环藤宁 (cyclen) 聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5' 核酸酶反应, Taqman测定法, MassArray (单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术), 三苯甲基质量标签,基因分型平台 (诸如侵入者 (Invader) 测定法®), 单碱基引物延伸 (SBE) 测定法, PCR扩增 (例如磁性纳米颗粒 (MNP) 上的PCR扩增, PCR产物限制酶分析 (RFLP法), 等位基因特异性PCR, 多重引物延伸 (MPEX), 和等温智能扩增。

103. 权利要求97至99任一项的方法,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测多态性。

104. 一种用于在生物学样品中测定至少一处多态性的存在的试剂盒,其包含用于检测簇集蛋白中至少一处多态性的存在的试剂和说明书,其中该多态性是包含SNP rs1532278的等位基因或等效等位基因。

105. 权利要求104的试剂盒,其中该试剂盒用于检测SNP rs1532278处T的存在。

106. 权利要求104的试剂盒,其中该试剂包含一套对于检测簇集蛋白中的多态性特异性的寡核苷酸。

107. 特异性结合簇集蛋白中的如下多态性的试剂制造用于选择有可能受益于抗Aβ抗体疗法的患者的诊断剂的用途,其中该多态性是在SNP rs1532278处包含T的等位基因。

108. 权利要求107的用途,其中通过选自下组的技术来检测至少一处多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳(DGGE),时间温度梯度电泳(TTGE),Zn(II)-轮环藤宁(cyclen)聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5'核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray(单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。

109. 权利要求107的用途,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测至少一处多态性。

110. 权利要求107的用途,其中SNP rs1532278处T的存在指示罹患早期或轻度AD的患者受益于抗Aβ抗体疗法的可能性升高。

111. 结合至少一处如下多态性的试剂用于鉴定有可能响应包含抗Aβ抗体或其抗原结合片段疗法的具有早期或轻度至中度AD的患者的体外用途,其中该多态性是簇集蛋白等位基因,其中所述多态性的存在将该患者鉴定为更加可能响应该疗法。

112. 权利要求111的用途,其中该簇集蛋白等位基因是包含SNP rs1532278的等位基因或其等效等位基因。

113. 权利要求112的用途,其中该患者具有轻度AD。

114. 权利要求112的用途,其中该患者具有早期AD。

115. 权利要求112的用途,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

116. 权利要求112的用途,其中通过选自下组的技术来检测至少一处多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳(DGGE),时间温度梯度电泳(TTGE),Zn(II)-轮环藤宁(cyclen)聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5'核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray(单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。

117. 权利要求112的用途,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测至少一处多态性。

治疗阿尔茨海默氏病的方法

[0001] 对相关申请的交叉援引

[0002] 本申请要求2014年2月8日提交的美国临时申请No.61/937,472,2014年3月27日提交的美国临时申请No.61/971,499,2014年6月10日提交的美国临时申请No.62/010,265,和2014年11月19日提交的美国临时申请No.62/082,013的权益,通过援引将前述申请的内容完整收入本文。

发明领域

[0003] 提供使用靶向淀粉状蛋白 β 的抗体治疗罹患轻度至中度阿尔茨海默氏病的患者的方法。还提供的是为用靶向淀粉状蛋白 β 的抗体治疗选择或鉴定患者的方法。方法包括预后和/或预测生物标志物的使用。

[0004] 发明背景

[0005] 阿尔茨海默氏病(AD)是痴呆的最常见原因,估计在美国影响450万人,在全世界影响2660万人(Hebert et al,Arch.Neurol.2003;60:1119-22;Brookmeyer et al.,Alzheimers Dement.2007;3:186-91)。该疾病的病理学特征在于脑中细胞外 β -淀粉状蛋白(“A β ”)斑和细胞内神经原纤维缠结的积累。经由神经学和神经心理学征候和AD症状的临床评估及排除痴呆的其它原因来进行诊断。AD常常通过简短的认知筛选检查,即迷你心理状态检查(“MMSE”)分成轻度,中度和重度阶段。得到批准的在脑中抑制乙酰胆碱酯酶(“AChE”)活性或拮抗N-甲基-D-天冬氨酸受体的医学疗法在一些患者中可暂时改善AD的症状但不改变该疾病的进展(Cummings,N.Engl.J.Med.2004;351:56-67)。

[0006] 现在较好证明了早期和晚期发作的家族性AD中的遗传因素。ApoE4等位基因与晚期发作的家族性和散发性AD强烈相关,一种所报告的等位基因在AD患者中有50%-65%的频率,是一般群体和其它神经学病症中的大约3倍(Saunders et al.,Neurology 1993;43:1467-72;Prekumar et al.,Am.J.Pathol.1996;148:2083-95)。在AD以外,已经将ApoE4等位基因与其它淀粉状蛋白形成性病症联系起来,包括脑淀粉状蛋白血管病(“CAA”) (Prekumar et al.,Am.J.Pathol.1996;148:2083-95)。如此,携带ApoE4等位基因的患者可能代表AD患者中的一个病因学独特群体。

[0007] 脑中细胞外淀粉状蛋白斑的沉积是AD中的一项标志性病理学发现,首先在1906年由Alois Alzheimer报告。这些淀粉状蛋白斑主要由A β 肽构成(Haass and Selkoe,Nature 2007;8:656-67),A β 肽是通过淀粉状蛋白前体蛋白(“APP”)经 β 和 γ -分泌酶活性连续切割生成的。A β (特别是它的寡聚化形式)对神经元有毒,而且认为它引起AD。降低脑中A β 水平的疗法可减轻认知功能障碍且阻断进一步突触损失,轴突退化,和神经元细胞死亡。A β 能被主动运输穿越血脑屏障(Deane et al.,Stroke 2004;35(Suppl I):2628-31)。在AD的鼠模型中,系统性投递针对A β 的抗体提高血浆中的A β 水平而降低中枢神经系统(CNS)中的水平,这经由数种所提出的机制进行,包括脑A β 斑分解,经过调理的A β 的吞噬去除,和最终作为源自循环抗体的A β 平衡移位的结果A β 自脑流出(Morgan,Neurodegener.Dis.2005;2:261-6)。

[0008] 用于治疗AD的治疗性抗体的开发的特征是重大失败。当施用特异性结合A β N端部

分的抗体巴品珠单抗未能阻滞所治疗患者中的认知衰退时,中断了该药物的大规模3期临床试验(Miles et al.,Scientific Reports 2013;3:1-4,Johnston&Johnson press release dated August 6,2012,题为“Johnson&Johnson Announces Discontinuation of Phase 3Development of bapineuzumab Intravenous (IV) in Mild-To-Moderate Alzheimer's Disease”)。值得注意的是,巴品珠单抗看来确实在脑脊液中稳定化斑水平且降低磷酸化tau水平-提示单独改变这些生物标志物并不必然预示临床功效(Miles et al.,Scientific Reports 2013;3:1-4)。类似地,在对单体Aβ特异性的在该肽中部结合的抗体索拉珠单抗的3期临床试验中,没有达到主要认知和功能终点(Eli Lilly and Company press release dated August 24,2012,“Eli Lilly and Company Announces Top-Line Results on solanezumab Phase 3Clinical Trials in Patients with Alzheimer's Disease”)。在针对AD的某些免疫疗法的调查期间还提出了安全性担忧;例如,在巴品珠单抗的2期临床试验中用药物治疗的患者中淀粉状蛋白相关成像异常(ARIA-E和ARIA-H)的发生率超过20%(Sperling et al.,The Lancet 2012;11:241-249)。估计65岁以上的9人中有1人具有AD—罹患AD的个体支付和受益的健康护理,长期护理和收容护理的合计年花费在2013年超过2000亿美元,而且估计到2050年时上升至1.2万亿美元(受影响个体支付和受益的)(Alzheimer's Association 2013Alzheimer's Disease Facts and Figures,Alzheimer's and Dementia 9:2)。AD是2013年美国第六位死亡原因(同上)。当前得到批准的疗法仅仅治疗AD的一些症状,而非根本的退化。针对AD的疾病改变治疗剂和帮助鉴定有可能响应针对AD的疾病改变疗法的患者的工具存在巨大的未满足的需求。

[0009] 发明概述

[0010] 克瑞珠单抗(Crenezumab,也称作MABT5102A)是因它在体外结合单体和寡聚体形式的Aβ二者的能力而选择的一种完全人源化的针对Aβ的IgG4单克隆抗体。克瑞珠单抗结合Aβ1-40和Aβ1-42二者,抑制Aβ聚集,且促进Aβ解体。因为克瑞珠单抗是一种人IgG4主链骨架抗体,所以它具有与人IgG1或IgG2相比降低的Fcγ受体(“FcγR”)结合亲和力,这预示降低的免疫效应器应答。与系统性投递的克瑞珠单抗降低AD的鼠模型中ABCNS水平的能力组合,这些特性提示这种抗Aβ治疗办法可提供临床功效,同时减轻毒性的风险,而且可能潜在能够改变AD的疾病进展,先前在其它Aβ抗体疗法的临床试验中看到的潜在有害副作用(诸如脑血管原发性水肿或出血)风险更低。

[0011] 本文中描述的AD患者中的二期临床研究的结果证明克瑞珠单抗确实减缓轻度至中度AD中的疾病进展,在ApoE4阳性患者中和在罹患轻度AD的患者中具有甚至更强的效果,而且在具有最轻度AD的患者中显示最大的治疗性好处。而且,在具有典型地在诊断有AD的患者中看到的脑淀粉状蛋白负荷的患者中看到效果。另外,结果证明这些效果在不良事件诸如ARIA-E和ARIA-H没有显著发生率的情况下发生。如此,本申请提供用于治疗 and 监测诊断有轻度至中度AD,尤其是轻度AD的患者,和ApoE4阳性患者,以及具有典型地在诊断有AD的患者中看到的脑淀粉状蛋白积累的患者。如本文中例示的,现在已经发现具有对淀粉状蛋白β(Aβ)肽的中区(即在氨基酸13-24内,诸如克瑞珠单抗)特异性的构象性表位的人源化单克隆抗淀粉状蛋白β抗体在ARIA-E或ARIA-H发生率没有升高的情况下有效治疗轻度至中度AD,尤其是ApoE4阳性患者和具有更轻度形式的AD,诸如但不限于轻度AD的患者,。因而,本申请提供用于调控AD严重程度的治疗剂及使用该治疗剂的改良方法。

[0012] 因而,本申请提供治疗罹患AD和其它淀粉样变的患者的方法,其包括施用在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合的人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(A β)抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,该抗体或其抗原结合片段能够结合原纤维,寡聚体,和单体形式的A β 。在一些实施方案中,该抗体是IgG4抗体。在特定实施方案中,该抗体或其抗原结合片段包含六个高变区(HVR),其中HVR-H1是SEQ ID NO:2,HVR-H2是SEQ ID NO:3,HVR-H3是SEQ ID NO:4,HVR-L1是SEQ ID NO:6,HVR-L2是SEQ ID NO:7,且HVR-L3是SEQ ID NO:8。在一些实施方案中,该抗体或其抗原结合片段包含包含重链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和包含轻链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。在一个具体例子中,该抗体是克瑞珠单抗。

[0013] 本文中提供的治疗方法可应用于罹患AD或其它淀粉样变的患者,如本文中进一步描述的。合适的患者包括罹患轻度至中度AD的患者,具有18至26的MMSE得分的患者,罹患轻度AD的患者,具有20或以上(例如20-30,20-26,24-30,21-26,22-26,22-28,23-26,24-26,或25-26)的MMSE得分的患者,罹患早期AD的患者(包括由于AD具有轻度认知损害的患者和具有临床前AD的患者),淀粉状蛋白阳性患者(或具有与诊断有AD的患者中看到的一致的脑淀粉状蛋白负荷的患者),和罹患轻度至中度或轻度AD的ApoE4阳性患者。

[0014] 在一些方面,本文中提供的方法是在罹患早期,轻度,或轻度至中度AD的患者中减轻AD所致衰退的方法。在一些实施方案中,该衰退是下述一项或多项:临床衰退,认知衰退,和功能衰退。在一些实施方案中,该衰退是临床衰退。在一些实施方案中,该衰退是认知能力衰退或认知衰退。在一些实施方案中,该衰退包含功能能力的衰退或功能衰退。已经开发了多种测试和量表来测量认知能力(包括记忆)和/或功能。在各种实施方案中,使用一种或多种测试来测量临床,功能,或认知衰退。认知能力的一种标准测量是阿尔茨海默氏病评估量表认知(ADAS-Cog)测试,例如12项ADAS-Cog或ADAS-Cog12。如此,在一些实施方案中,使用ADAS-Cog12测试来测定用本发明的抗体治疗的患者中认知能力衰退(或认知衰退)的减轻或减缓。ADAS-Cog12得分的升高指示患者的状况恶化。在一些实施方案中,通过临床痴呆评定量表/分项之和(CDR-SOB)得分来测定用本发明的抗体治疗的患者中认知衰退(或认知能力衰退)的减轻或减缓。在一些实施方案中,使用日常生活的器械活动(或iADL)量表来测定用本发明的抗体治疗的患者中功能衰退(或功能能力衰退)的减轻或减缓。在一些实施方案中,评估一种或多种类型的衰退,并使用一种或多种前述测试或量表来测量衰退的减轻或减缓。

[0015] 以有效治疗该AD或本文中描述的其它淀粉样变的剂量施用本发明的抗体或其抗原结合片段。合适的剂量在本文中有描述,而且范围可以是约0.3mg/kg至100mg/kg。在一个例示性实施方案中,剂量是15mg/kg。在又一个例示性实施方案中,该剂量是30mg/kg。在又一个例示性实施方案中,该剂量是45mg/kg。在一些实施方案中,该剂量介于500mg和1000mg之间,例如500mg,700mg,720mg,750mg,800mg,820mg,900mg,或介于1000mg和2500mg之间,例如1050mg,1500mg,或2100mg。在本文中提供的方法中,涵盖多种剂量方案,包括在较长时间段(例如数月至数年)上重复(例如依每周或每月的进度表)施用该抗体的剂量方案。

[0016] 本公开文本的人源化单克隆抗A β 抗体提供别的好处,在于它不提高不良事件诸如ARIA-E和ARIA-H的发生率。如本文中显示的,治疗分支中的这些不良事件相对于安慰剂分支没有升高。如此,本公开文本进一步提供在没有提高不良事件诸如ARIA-E和/或ARIA-H发

生率的情况下治疗罹患轻度至中度AD或轻度AD的患者的方法。

[0017] 关于遗传变体的探索性分析揭示了簇集蛋白 (CLU或CLUSTERIN) 基因中的单核苷酸多态性 (SNP) 和治疗效果之间的联系。如本文中显示的, 克瑞珠单抗在携带至少一个在单核苷酸多态性 (SNP) rs1532278处具有T的CLU等位基因的患者中具有相对于不具有在单核苷酸多态性 (SNP) rs1532278处具有T的CLU等位基因的患者更大的相对于安慰剂的治疗效果。在具有轻度AD的患者以及ApoE4阳性患者中看到了该效果。

[0018] 因而, 一方面, 本申请提供治疗具有早期, 轻度至中度, 或轻度AD的患者的方法, 其包括以有效治疗该AD的量对罹患早期AD, 轻度AD, 或轻度至中度AD的患者施用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔 (A β) 抗体, 其中该患者具有至少一个在单核苷酸多态性 (SNP) rs1532278处包含T的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因。在一些实施方案中, 该簇集蛋白等位基因是等效等位基因。

[0019] 在一些实施方案中, 该簇集蛋白等位基因与rs1532278连锁不平衡。在一些实施方案中, 该等效等位基因包含与rs1532278连锁不平衡的SNP。在一些实施方案中, 该连锁不平衡为D' 测量或 r^2 测量。在一些实施方案中, 选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中, 选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中, 选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 1.0 。在一些实施方案中, 选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中, 选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中, 选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 1.0 。

[0020] 如本文中提供的, 治疗罹患AD和其它淀粉样变的患者的方法包括施用在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1) 的残基13和24内结合的人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔 (A β) 抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中, 该抗体或其抗原结合片段能够结合原纤维, 寡聚体, 和单体形式的A β 。在一些实施方案中, 该抗体是IgG4抗体。在特定实施方案中, 该抗体或其抗原结合片段包含六个高变区 (HVR), 其中HVR-H1是SEQ ID NO:2, HVR-H2是SEQ ID NO:3, HVR-H3是SEQ ID NO:4, HVR-L1是SEQ ID NO:6, HVR-L2是SEQ ID NO:7, 且HVR-L3是SEQ ID NO:8。在一些实施方案中, 该抗体或其抗原结合片段包含包含重链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和包含轻链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。在一个具体例子中, 该抗体是克瑞珠单抗。

[0021] 以有效治疗该AD或本文中描述的其它淀粉样变的剂量施用本发明的抗体或其抗原结合片段。合适的剂量在本文中有描述, 而且范围可以是约 0.3mg/kg 至 100mg/kg 。在一个例示性实施方案中, 该剂量是 15mg/kg 。在又一个例示性实施方案中, 该剂量是 30mg/kg 。在又一个例示性实施方案中, 该剂量是 45mg/kg 。在一些实施方案中, 该剂量介于 500mg 和 1000mg 之间, 例如 $500\text{mg}, 700\text{mg}, 720\text{mg}, 750\text{mg}, 800\text{mg}, 820\text{mg}, 900\text{mg}$, 或介于 1000mg 和 2500mg 之间, 例如 $1050\text{mg}, 1500\text{mg}$, 或 2100mg 。在本文中提供的方法中, 涵盖多种剂量方案, 包括在较长时间段 (例如数月至数年) 上重复 (例如依每周或每月的进度表) 施用该抗体的剂量方案。

[0022] 本文中提供的治疗方法可应用于罹患AD或本文中另外描述的其它淀粉样变的患者。合适的患者包括罹患轻度至中度AD的患者, MMSE得分为18至26的患者, 罹患轻度AD的患者, MMSE得分为20或以上 (例如20-30, 20-26, 24-30, 21-26, 22-26, 22-28, 23-26, 24-26, 或25-26) 的患者, 罹患早期AD的患者 (包括具有AD所致轻度认知损害的患者和具有临床前AD

的患者),淀粉状蛋白阳性患者(或具有与在诊断有AD的患者中看到的一致的脑淀粉状蛋白负荷的患者),和罹患轻度至中度或轻度AD的ApoE4阳性患者。

[0023] 本文中还提供的是鉴定有可能受益于用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(AB)抗体治疗的患者的方法以及为用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(AB)抗体或其抗原结合片段治疗选择患者的方法。在一些实施方案中,该方法包括在来自该患者的样品中检测在单核苷酸多态性(SNP) rs1532278处具有T的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的存在或缺失。在一些实施方案中,该鉴定患者的方法包括在来自该患者的样品中检测包含如下多态性的簇集蛋白等位基因的存在,该多态性预示对用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(AB)抗体治疗的响应。在一些实施方案中,该方法包括当来自患者的样品中存在单核苷酸多态性(SNP) rs1532278处的T时选择该患者为更加可能响应所述治疗。

[0024] 在一些实施方案中,该簇集蛋白等位基因是等效等位基因。在一些实施方案中,该簇集蛋白等位基因与rs1532278连锁不平衡。在一些实施方案中,该等效等位基因包含与rs1532278连锁不平衡的SNP。在一些实施方案中,该连锁不平衡为D' 测量或 r^2 测量。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 1.0 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 1.0 。

[0025] 在一些实施方案中,人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(AB)抗体或其抗原结合片段在淀粉状蛋白 β (1-42)(SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。在一些实施方案中,该抗体或其抗原结合片段能够结合原纤维,寡聚体,和单体形式的AB。在一些实施方案中,该抗体是IgG4抗体。在特定实施方案中,该抗体或其抗原结合片段包含六个高变区(HVR),其中HVR-H1是SEQ ID NO:2,HVR-H2是SEQ ID NO:3,HVR-H3是SEQ ID NO:4,HVR-L1是SEQ ID NO:6,HVR-L2是SEQ ID NO:7,且HVR-L3是SEQ ID NO:8。在一些实施方案中,该抗体或其抗原结合片段包含包含重链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和包含轻链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。在一个具体例子中,该抗体是克瑞珠单抗。在一些实施方案中,该抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

[0026] 一方面,本公开文本提供预测罹患AD的个体是否有可能响应包含抗AB抗体或其抗原结合片段的治疗的方法。在一些实施方案中,该方法包括在来自该个体的样品中测定SNP rs1532278处的核苷酸的身份,并当该样品含有至少一个在SNP rs1532278处具有T核苷酸的等位基因或其等效等位基因时,预测响应包含抗AB抗体或其抗原结合片段的治疗的可能性升高。在一些实施方案中,该等效等位基因包含与rs1532278连锁不平衡的SNP。在一些实施方案中,该连锁不平衡为D' 测量或 r^2 测量。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 1.0 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 1.0 。

[0027] 在一些实施方案中,该抗AB抗体是人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(AB)抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,该人源化单克隆抗淀粉状蛋白 β (AB或AB)抗体或其抗原

结合片段在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。在一些实施方案中,该抗体或其抗原结合片段能够结合原纤维,寡聚体,和单体形式的AB。在一些实施方案中,该抗体是IgG4抗体。在特定实施方案中,该抗体或其抗原结合片段包含六个高变区(HVR),其中HVR-H1是SEQ ID NO:2,HVR-H2是SEQ ID NO:3,HVR-H3是SEQ ID NO:4,HVR-L1是SEQ ID NO:6,HVR-L2是SEQ ID NO:7,且HVR-L3是SEQ ID NO:8。在一些实施方案中,该抗体或其抗原结合片段包含包含重链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和包含轻链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。在一个具体例子中,该抗体是克瑞珠单抗。在一些实施方案中,该抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

[0028] 一方面,本公开文本提供为AD治疗优化治疗功效的方法,其包括:测定患者的基因型,其中测定为携带至少一个在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的患者更加可能响应用抗AB抗体或其抗原结合片段治疗。在一些实施方案中,该簇集蛋白等位基因是等效等位基因。在一些实施方案中,该簇集蛋白等位基因与rs1532278连锁不平衡。在一些实施方案中,该等效等位基因包含与rs1532278连锁不平衡的SNP。在一些实施方案中,该连锁不平衡为D'测量或 r^2 测量。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D'测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D'测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D'测量为 1.0 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 1.0 。

[0029] 在一些实施方案中,该抗AB抗体是人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(AB)抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,该人源化单克隆抗淀粉状蛋白 β (AB或AB)抗体或其抗原结合片段在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。在一些实施方案中,该抗体或其抗原结合片段能够结合原纤维,寡聚体,和单体形式的AB。在一些实施方案中,该抗体是IgG4抗体。在特定实施方案中,该抗体或其抗原结合片段包含六个高变区(HVR),其中HVR-H1是SEQ ID NO:2,HVR-H2是SEQ ID NO:3,HVR-H3是SEQ ID NO:4,HVR-L1是SEQ ID NO:6,HVR-L2是SEQ ID NO:7,且HVR-L3是SEQ ID NO:8。在一些实施方案中,该抗体或其抗原结合片段包含包含重链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和包含轻链可变区的具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。在一个具体例子中,该抗体是克瑞珠单抗。在一些实施方案中,该抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

[0030] 本文中提供的方法包括检测簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的存在和/或测定簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的身份。在一些实施方案中,个体中簇集蛋白等位基因的存在包括自来自个体的样品提供的核酸测定该多态性处核苷酸的身份。在一些实施方案中,该核酸样品包含DNA。在一些实施方案中,该核酸样品包含RNA。在一些实施方案中,扩增该核酸样品。在一些实施方案中,通过聚合酶链式反应来扩增该核酸样品。在一些实施方案中,通过聚合酶链式反应或测序来检测该多态性。在一些实施方案中,通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测该多态性。在一些实施方案中,通过选自下组的技术来检测该多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳(DGGE),时间温度梯度电泳(TTGE),Zn(II)-轮环藤宁(cyclen)聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核

核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5' 核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray (单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。在一些实施方案中,经基因分型来测定患者中该多态性处的核苷酸的身份。在一些实施方案中,通过PCR分析,序列分析或LCR分析来实施该基因分型。

[0031] 提供合适的样品来进行本文中公开的方法。如此,在一些实施方案中,该样品是任何可以自其分离基因组DNA的生物样品,例如但不限于组织样品,唾液样品,面颊拭子样品,血液,或含有基因组DNA的其它生物学流体。在一些实施方案中,该样品包含DNA。在一些实施方案中,该样品包含RNA。

[0032] 本公开文本进一步提供适合在本文中公开的治疗方法中使用的药物配制剂。该药物配制剂可以配制成供任何便利的施用路径,例如胃肠外或静脉内注射,而且在本公开文本的抗Aβ抗体以外通常会包括适合于期望施用模式的一种或多种可接受的载剂,赋形剂,和/或稀释剂。在一些实施方案中,本发明的抗体可以配制成供静脉内施用。在一些实施方案中,本发明的抗体可以在精氨酸缓冲液中配制,例如琥珀酸精氨酸缓冲液。该缓冲液可以含有一种或多种表面活性剂,例如聚山梨酯。在某些实施方案中,该缓冲液的浓度是50mM或更大。在一些实施方案中,pH介于4.5和7.0之间,例如pH 5.5。本文中描述了别的实施方案。该药物配制剂可以以单位剂量形式包装以易于使用。

[0033] 用抗Aβ抗体治疗AD或本文中描述的其它淀粉样变的治疗可以与其它疗法组合,包括一种或多种除克瑞珠单抗以外的抗Aβ抗体。其它疗法的非限制性例子包括神经学药物,皮质类固醇,抗生素,和抗病毒剂。除克瑞珠单抗以外的抗Aβ抗体的非限制性例子包括索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗,和刚奈鲁单抗。

[0034] 本文中还提供的是用于测定簇集蛋白等位基因的存在的试剂盒。一方面,本公开文本提供用于在生物样品中测定至少一处多态性的存在的试剂盒,其包含用于检测簇集蛋白中的至少一处多态性的存在的试剂和说明书,其中该多态性是包含SNP rs1532278的等位基因或等效等位基因。该试剂盒的试剂和使用方法在本文中有进一步描述。

[0035] 另一方面,本公开文本提供药剂和此类药剂用于鉴定有可能响应包含抗Aβ抗体或其抗原结合片段的疗法的具有早期或轻度至中度AD的患者的体外用途,其中(例如簇集蛋白中)所述多态性的存在将该患者鉴定为更加可能响应该疗法。因而,供此类方法中使用的药剂包括能够检测在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的药剂。

[0036] 附图简述

[0037] 图1提供Aβ(1-42)的氨基酸序列(SEQ ID NO:1),氨基酸13至24标有下划线。

[0038] 图2提供三个重链高变区(分别是HVR-H1,HVR-H2,和HVR-H3)的氨基酸序列和三个轻链高变区(分别是HVR-L1,HVR-L2,HVR-L3)的氨基酸序列。

[0039] 图3提供克瑞珠单抗的重链(SEQ ID NO:5,其包含跨越SEQ ID NO:5氨基酸1至112的重链可变区)和轻链(SEQ ID NO:9,其包含跨越SEQ ID NO:9氨基酸1至112的轻链可变区)的氨基酸序列。SEQ ID NO:5和9中的下划线分别显示与SEQ ID NO:2-4对应的三个重链

HVR和与SEQ ID NO:6-8对应的三个轻链HVR的氨基酸序列。

[0040] 图4A-B提供在实施例1中描述的临床试验中登记的患者的汇总,列出了每个分支(治疗对安慰剂)中登记的患者的数目,ApoE4状态(ApoE4阴性/ApoE4阳性),AD的阶段(轻度或中度),和筛选时的MMSE得分,针对AD症状的并行疗法(并行药物使用)的存在和类型。

[0041] 图5提供实施例1中描述的临床试验的示意图,显示剂量给药进度表,量,和路径。

[0042] 图6A-B提供数据表,显示了治疗分支和安慰剂分支中73周时ADAS-Cog12得分相对于基线的变化。图6A提供具有轻度至中度AD,轻度AD,中度AD的患者和ApoE4阳性和阴性患者的数据。图6B提供依照MMSE得分的患者的数据。

[0043] 图7提供用克瑞珠单抗(深色实线)或安慰剂(浅色实线)治疗的具有介于20和26之间的MMSE得分的具有轻度AD的患者的ADAS-Cog12得分的变化图。

[0044] 图8提供用克瑞珠单抗(深色实线)或安慰剂(浅色实线)治疗的具有介于18和26之间的MMSE得分的具有轻度至中度AD的患者的ADAS-Cog12得分的变化图。

[0045] 图9提供用克瑞珠单抗(深色实线)或安慰剂(浅色实线)治疗的具有轻度至中度AD的ApoE4阳性患者的ADAS-Cog12得分的变化图。

[0046] 图10提供用克瑞珠单抗(深色实线)或安慰剂(浅色实线)治疗的所有ApoE4阳性患者和具有轻度AD的患者间ADAS-Cog12得分的变化图。

[0047] 图11提供用克瑞珠单抗或安慰剂治疗的具有介于22和26之间的MMSE得分的具有轻度AD的患者的ADAS-Cog12得分的变化图。

[0048] 图12A-B提供数据表,显示了治疗分支和安慰剂分支中73周时CDR-SOB得分相对于基线的变化。图12A提供依照MMSE得分的患者的CDR-SOB得分变化的数据。图12B提供具有范围为18-26,20-26,和22-26的MMSE得分的患者的CDR-SOB得分以及CDR判断和解决问题得分和CDR记忆得分的数据。

[0049] 图13提供如所示的用克瑞珠单抗或安慰剂治疗的具有MMSE得分25或26的具有轻度AD的患者的CDR-SOB得分的变化图。

[0050] 图14A-B提供在实施例2中描述的临床试验中登记的患者在基线时和在治疗之后的汇总,包括不良事件数据(A)和显示在该临床试验中何时实施PET扫描,MRI扫描,和CSF取样的时间轴(B)。

[0051] 图15A-B提供显示接受安慰剂(虚线)或克瑞珠单抗(实线)的患者中的淀粉状蛋白水平(如通过florbetapir成像通过PET分析测量的)(A)和接受安慰剂或克瑞珠单抗的患者中的CSF A β 水平(B)的图。

[0052] 图16A-B提供显示治疗分支或安慰剂分支中具有轻度至中度AD的患者的ADAS-Cog12得分变化的并排图。图(A)显示SNP阴性的患者(即患者没有任何在单核苷酸多态性(SNP)rs1532278处携带T的簇集蛋白基因的等位基因)而图(B)显示SNP阳性的患者(即患者具有至少一个在单核苷酸多态性(SNP)rs1532278处携带T的簇集蛋白基因的等位基因)。

[0053] 图17A-B提供显示治疗分支或安慰剂分支中具有轻度至中度AD的ApoE4阳性患者的ADAS-Cog12得分变化的并排图。图(A)显示SNP阴性的患者(即患者没有任何在单核苷酸多态性(SNP)rs1532278处携带T的簇集蛋白基因的等位基因)而图(B)显示SNP阳性的患者(即患者具有至少一个在单核苷酸多态性(SNP)rs1532278处携带T的簇集蛋白基因的等位基因)。

[0054] 图18A-B提供显示治疗分支或安慰剂分支中具有轻度AD的患者的ADAS-Cog12得分变化的并排图。图(A)显示SNP阴性的患者(即患者没有任何在单核苷酸多态性(SNP) rs1532278处携带T的簇集蛋白基因的等位基因)而图(B)显示SNP阳性的患者(即患者具有至少一个在单核苷酸多态性(SNP) rs1532278处携带T的簇集蛋白基因的等位基因)。

[0055] 发明详述

[0056] 除非另有定义,本文中所使用的技术和科学术语与本发明所属领域中的普通技术人员的通常理解具有相同意义。Singleton等,Dictionary of Microbiology and Molecular Biology第2版,J.Wiley&Sons (New York,N.Y.1994),及March,Advanced Organic Chemistry Reactions,Mechanisms and Structure第4版,John Wiley&Sons (New York,N.Y.1992)为本领域技术人员提供本申请中使用的许多术语的一般指导。

[0057] 某些定义和缩写

[0058] 为了解读本说明书,以下定义会适用,并且只要合适,以单数使用的术语也会包括复数,且反之亦然。在下文所列出的任何定义与通过提及而收入本文中的任何文献矛盾的情况下,应当以下文所列出的定义为准。

[0059] 如此说明书和所附权利要求书中使用的,除非上下文另外清楚指明,单数形式“一个/一种”和“该/所述”包括复数所指物。如此,例如,提到“一种蛋白质”或“一种抗体”分别包括多种蛋白质或抗体;提到“一种细胞”包括细胞混合物,诸如此类。

[0060] 说明书和所附权利要求书中提供的范围包括两个终点和介于终点之间的所有点。如此,例如,2.0至3.0的范围包括2.0,3.0,和介于2.0和3.0之间的所有点。

[0061] 短语“基本上相似”或“基本上相同”在用于本文时表示两个数值(通常,一个涉及本发明的抗体而另一个涉及参照/比较抗体)之间足够高的相似程度,以致本领域技术人员将认为在用所述数值(例如Kd值)所测量的生物学特性背景内两个数值之间的差异具有很小的或没有生物学和/或统计学显著性。作为参照/比较抗体的值的函数,所述两个数值之间的差异例如小于约50%,小于约40%,小于约30%,小于约20%,小于约10%。

[0062] 如本文中所使用的,术语“样品”或“测试样品”指自感兴趣的受试者获得或衍生的组合物,其含有要例如基于物理,生物化学,化学和/或生理学特征表征和/或鉴定的细胞和/或其它分子实体。在一个实施方案中,该定义涵盖生物起源的血液和其它液体样品和组织样品诸如活组织检查标本或组织培养物或自其衍生的细胞。组织样品的来源可以是固体组织,如来自新鲜的,冷冻的和/或保存的器官或组织样品或活组织检查或吸出物;血液或任何血液成分;体液;和来自受试者妊娠或发育中的任何时间的细胞或血浆。如本文中所使用的,术语“生物学样品”包括但不限于血液,血清,血浆,痰,组织活检(例如肺样品),和鼻样品包括鼻拭子或鼻息肉。

[0063] 术语“样品”,“生物学样品”,或“测试样品”包括在其获得后已经以任何方式操作,诸如通过用试剂处理,增溶,或富集某种组分,诸如蛋白质或多核苷酸,或者为了形成切片包埋于半固体或固体基质中的生物学样品。出于本文中的目的,组织样品的“切片”意指组织样品的单一部分或份,例如自组织样品切割的细胞或组织薄片。样品包括但不限于全血,血液衍生的细胞,血清,血浆,淋巴液,滑液,细胞提取物,及其组合。在一个实施方案中,样品是临床样品。在另一个实施方案中,在诊断测定法中使用样品。

[0064] 在一个实施方案中,在用抗AB抗体治疗之前自受试者或患者获得样品。在另一个

实施方案中,在用抗Aβ抗体治疗至少一次之后自受试者或患者获得样品。

[0065] 如本文中所使用的,“参照样品”指出于比较目的使用的任何样品,标准品,或水平。在一个实施方案中,自相同受试者或患者的身体的健康和/或未患病部分(例如组织或细胞)获得参照样品。在另一个实施方案中,自相同受试者或患者的身体的未处理组织和/或细胞获得参照样品。在还有另一个实施方案中,自不是受试者或患者的个体的身体的健康和/或未患病部分(例如组织或细胞)获得参照样品。在甚至另一个实施方案中,自不是受试者或患者的个体的身体的未处理组织和/或细胞部分获得参照样品。

[0066] 在某些实施方案中,参照样品是与获得测试样品时不同的一个或多个时间点时获得的来自相同受试者或患者的单一样品或组合的多份样品。例如,在比获得测试样品时更早的时间点时自相同受试者或患者获得参照样品。在某些实施方案中,参照样品包括自一名或多名不是受试者或患者的个体获得的所有类型的生物学样品,如上文在术语“样品”下所定义的。在某些实施方案中,自一名或多名不是受试者或患者的患有淀粉样变,例如阿尔茨海默氏病的个体获得参照样品。

[0067] 在某些实施方案中,参照样品是来自一名或多名不是受试者或患者的健康个体的组合的多份样品。在某些实施方案中,参照样品是来自一名或多名不是受试者或患者的患有疾病或病症(例如淀粉样变,例如阿尔茨海默氏病)的个体的组合的多份样品。在某些实施方案中,参照样品是来自一名或多名不是受试者或患者的个体的正常组织的合并的RNA样品或合并的血浆或血清样品。

[0068] 自得自受试者的生物学样品分离核酸样品。可以使用标准技术自生物学样品分离核酸样品。可以在用于测定多态性变体的存在的方法中使用核酸样品。可以使用核酸样品中呈现的染色体组型之一或二者来测定多态性变体的存在或缺失。在核酸样品中呈现的染色体组型二者中测定多态性变体的存在或缺失对于测定个体关于多态性变体的接合性是有用的。

[0069] 术语“小分子”指具有介于50道尔顿至2500道尔顿之间的分子量的有机分子。

[0070] 术语“抗体”和“免疫球蛋白”(“Ig”)以最广义可互换使用,而且包括但不限于单克隆抗体(例如全长或完整单克隆抗体),多克隆抗体,多价抗体,具有多表位特异性的抗体,单链抗体,多特异性抗体(例如双特异性抗体,三特异性抗体,四特异性抗体),和抗体片段,只要它们展现期望的生物学活性。此类抗体可以是嵌合的,人源化的,人的,合成的,和/或亲和成熟的。此类抗体及其生成方法在本文中有更为详细的描述。

[0071] “抗体片段”只包含完整抗体的一部分,其中该部分优选保留正常情况下与该部分存在于完整抗体中时有关的至少一种,通常大多数或所有功能。在一个实施方案中,抗体片段包含完整抗体的抗原结合位点且因此保留结合抗原的能力。在另一个实施方案中,抗体片段(例如包含Fc区的)保留正常情况下与Fc区存在于完整抗体中时有关的至少一种生物学功能,诸如FcRn结合,抗体半衰期调控,ADCC功能和补体结合。在一个实施方案中,抗体片段是具有与完整抗体实质性相似的体内半衰期的单价抗体。例如,此类抗体片段可包含抗原结合臂,其连接至能够赋予该片段体内稳定性的Fc序列。抗体片段的例子包括但不限于Fv,Fab,Fab',Fab'-SH,F(ab')₂;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和自抗体片段形成的多特异性抗体。

[0072] 如本文中使用的,术语“靶”或“靶物”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸

如灵长类动物(例如人)和啮齿类动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然分子,除非另外指明。该术语涵盖“全长”未加工的靶物以及源自细胞中加工的任何形式的靶物。该术语还涵盖靶物的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。

[0073] 术语“淀粉状蛋白 β ”,“ β -淀粉状蛋白”,“A β ”和“淀粉状蛋白贝塔”在本文中可互换使用,指淀粉状蛋白前体蛋白(“APP”)在 β -分泌酶1(“BACE1”)切割APP后生成的片段,以及其修饰,片段和任何功能等同物,包括但不限于A β 1-40,和A β 1-42。已知A β 以单体形式存在,以及联合而形成寡聚体和原纤维结构,可见于淀粉状蛋白斑的构成性成员。此类A β 肽的结构和序列是本领域普通技术人员公知的,而且生成所述肽或自脑和其它组织提取它们的方法记载于例如Glennner and Wong, *Biochem Biophys Res. Comm.* 129:885-890 (1984)。而且, A β 肽还是多种形式商品化的。人 A β 1 - 4 2 的一种例示性氨基酸序列是 DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAED VGSNKGAIIGLMVGGVVIA (SEQ ID NO:1)。

[0074] 术语“抗靶物抗体”和“结合靶物的抗体”指能够以足够的亲和力结合靶物,使得抗体可用作靶向靶物中的诊断和/或治疗剂的抗体。在一个实施方案中,抗靶物抗体对无关的,非靶物蛋白的结合程度小于抗体对靶物的结合的约10%,如例如通过放射性免疫测定法(RIA)或Biacore测定法测量的。在某些实施方案中,结合靶物的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$, $\leq 10\text{nM}$, $\leq 1\text{nM}$, $\leq 0.1\text{nM}$, $\leq 0.01\text{nM}$, 或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更少,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M)的解离常数(Kd)。在某些实施方案中,抗靶物抗体结合在不同物种间保守的靶物表位。

[0075] “抗A β 免疫球蛋白”,“抗A β 抗体”,和“结合A β 的抗体”在本文中可互换使用,而且指特异性结合人A β 的抗体。抗A β 抗体的一个非限制性例子是克瑞珠单抗。抗A β 抗体的其它非限制性例子有索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗,和刚奈鲁单抗。

[0076] 术语“克瑞珠单抗”和“MABT5102A”本文中可互换使用,而且指结合单体,寡聚体,和原纤维形式的A β 且与CAS登记号1095207有关的特异性抗A β 抗体。在一个实施方案中,此类抗体包含图2中所列HVR区序列。在另一个此类实施方案中,此类抗体包含:(1)包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1序列;(2)包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2序列;(3)包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3序列;(4)包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L1序列;(5)包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L2序列;和(6)包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-L3序列。在另一个实施方案中,该特异性抗A β 抗体包含具有图3中所列氨基酸序列的VH和VL域。在另一个此类实施方案中,此类特异性抗A β 抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的VH域和包含氨基酸序列SEQ ID NO:9的VL域。在另一个实施方案中,该抗体是IgG4抗体。在另一个此类实施方案中,该IgG4抗体在其恒定域中包含突变,使得丝氨酸228改为脯氨酸。

[0077] 如本文中使用的,术语“淀粉样变”指由淀粉状蛋白或淀粉状蛋白样蛋白引起的或与淀粉状蛋白或淀粉状蛋白样蛋白有关的一组疾病和病症,而且包括但不限于由单体,原纤维,或多聚体状态或三者的任意组合的淀粉状蛋白样蛋白(包括淀粉状蛋白斑)的存在或活性引起的疾病和病症。此类疾病包括但不限于诸如下述疾病的继发性淀粉样变和年龄相关淀粉样变,包括但不限于神经学病症诸如阿尔茨海默氏病(“AD”),特征在于认知记忆能力损失的疾病或状况诸如例如轻度认知损害(MCI),Lewy体痴呆,唐(Down)氏综合征,伴有淀粉样变的遗传性脑出血(荷兰型),关岛型帕金森-痴呆复合症和基于淀粉状蛋白样蛋白或与淀粉状蛋白样蛋白有关的其它疾病诸如进行性核上性麻痹,多发性硬化,克-雅

(Creutzfeldt Jacob) 病,帕金森 (Parkinson) 氏病,HIV相关痴呆,ALS (肌萎缩性侧索硬化症),包涵体肌炎 (IBM),成人发作型糖尿病,内分泌肿瘤和老年性心脏淀粉样变,和 β -淀粉状蛋白沉积所致各种眼病包括黄斑变性,玻璃疣相关视神经病,青光眼,和白内障。

[0078] 青光眼是涉及视神经病的特征性样式的视网膜神经节细胞 (RGC) 损失的一组视神经疾病。RGC是将视觉信号自眼传输至脑的神经细胞。胱天蛋白酶-3和胱天蛋白酶-8 (凋亡过程中的两种主要酶) 在导致RGC凋亡的过程中受到活化。胱天蛋白酶-3切割淀粉状蛋白前体蛋白 (APP) 以生成神经毒性片段,包括A β 。在没有APP的保护效果的情况下,视网膜神经节细胞层中的A β 积累导致RGC死亡和不可逆视觉损失。

[0079] 青光眼常常而非总是伴有眼压升高,它可能是阻断水的循环,或其引流的结果。虽然眼内压升高是发生青光眼的一项重大风险因子,但是未能定义对于引起青光眼会是决定性的眼内压的阈。损害也可以是由至关重要的视神经纤维的血供较差,神经结构脆弱,和/或神经纤维自身的健康问题引起的。未治疗的青光眼导致永久视神经损害和所致视野损失,可进展至失明。

[0080] 不同类型的青光眼分为开角性青光眼 (若疾患是慢性的) 或闭角性青光眼 (若急性青光眼突然发生)。青光眼通常影响双眼,但是该疾病可以在一只眼中进展比在另一只眼中更迅速。

[0081] 慢性开角性青光眼 (COAG), 也称作原发性开角性青光眼 (POAG), 是最常见形式的青光眼。COAG是由小梁网中的微观阻断引起的,其降低房水流出施累姆 (Schlemm) 氏管的引流且提高眼内压 (IOP)。POAG通常影响双眼且与年龄和阳性家族史强烈相关。它的频率在老年人中升高,因为眼引流机制可随衰老逐渐变得堵塞。受到慢性开角性青光眼影响的受试者中眼内压的升高并不伴有任何症状,直至感觉到中央视觉区的损失。

[0082] 急性闭角性青光眼 (AACG) 或闭角性青光眼是一种相对罕见类型的青光眼,特征在于眼内压突然升高至35至80mmHg,导致严重疼痛和不可逆视力损失。突然压力升高是由闭合过滤角和阻断引流通道的引起的。具有窄角的个体对于角突然闭合具有升高的风险。AACG通常单眼发生,但是风险存在于双眼中。年龄,白内障和假性表皮剥脱也是风险因子,因为它们与晶状体增大和角变挤或变窄有关。突然青光眼发作可与严重眼痛和头痛,眼发炎,恶心,呕吐,和视力模糊有关。

[0083] 混合或组合机制青光眼是开角性和闭角性青光眼的混合或组合。它影响在激光虹膜切开术之后角打开但继续需要药疗来控制IOP的急性ACG患者,以及逐渐发生角变窄的POAG或假性表皮剥脱性青光眼患者。

[0084] 正常眼压性青光眼 (NTG), 也称作低眼压性青光眼 (LTG), 特征在于与在其它类型的青光眼中看到的相似的周围视力损失和渐进性视神经损害;然而,眼内压是正常范围或甚至低于正常。

[0085] 先天性 (婴儿) 青光眼是一种相对罕见的,遗传型开角性青光眼。引流区域的发育不足导致眼中压力升高,这可导致视神经损害所致视力损失及导致眼变大。早期诊断和治疗对于保留受到疾病影响的婴儿和儿童的视力是至关重要的。

[0086] 继发性青光眼可源自眼损伤,眼虹膜炎症 (虹膜炎), 糖尿病,白内障,或在类固醇易感性个体中使用类固醇。继发性青光眼还可与视网膜脱离或视网膜静脉阻塞或阻断有关。

[0087] 色素性青光眼特征在于色素颗粒自虹膜脱离。该颗粒引起眼的引流系统阻断,导致眼内压升高和损害视神经。表皮剥脱性青光眼(假性表皮剥脱)特征在于薄片状材料在前囊上和眼角中的沉积物。薄片状材料的积累阻断引流系统和提高眼压。

[0088] 青光眼的诊断可以使用各种测试来进行。测压术通过测量其表面的紧张度或坚固度来测定眼中压力。数种类型的眼压计可用于这一测试,最常用的是压平式眼压计。测厚术测定角膜的厚度,继而测量眼内压。前房角镜检查术容许检查眼的过滤角和引流区。前房角镜检查术还能测定异常血管是否可能阻断房水流出眼的引流。检眼镜检查术容许检查视神经且能检测神经纤维层下降或视神经盘变化,或这一结构的压痕(杯痕),其可以是由眼内压升高或轴突脱出引起的。前房角镜检查术在评估血流较差或眼内压升高所致对神经的损伤中也是有用的。视野测试将视野主观绘图,它可检测视神经的青光眼损害的迹象。这由特定样式的视野损失来代表。眼相干断层扫描术(神经纤维层损失的一种客观测量)通过经穿过受损轴突组织的光透射的差异查看视神经纤维层的厚度(在青光眼中改变)来进行。

[0089] 与参照抗体“结合相同表位的抗体”指在竞争测定法中将参照抗体对其抗原的结合阻断50%或更多的抗体,且相反,参照抗体在竞争测定法中将该抗体对其抗原的结合阻断50%或更多。本文中提供了一种例示性竞争测定法。

[0090] 如本文中使用的,术语“生物标志物”一般指如下分子,包括单核苷酸多态性(SNP),蛋白质,碳水化合物结构,或糖脂,其在哺乳动物组织或细胞中或上的表达可以通过标准方法(或本文中公开的方法)来检测且基于补体(例如旁路补体途径)的抑制对于哺乳动物细胞或组织对治疗方案的敏感性是预测性的,诊断性的和/或预后性的。任选地,当SNP(一种二元实体)将一组个体分层入响应者和非响应者时测定SNP生物标志物。例如,假设一处SNP具有两种核苷酸,G和A,其中A是风险等位基因,A等位基因的携带者(例如AA或GA个体)响应治疗,而没有A等位基因的个体(例如GG个体)不响应。

[0091] 如本文中使用的,“预测性生物标志物”鉴定最有可能响应给定治疗的患者亚群。

[0092] 如本文中使用的,“预后性生物标志物”指指示未治疗个体中疾病的可能过程的标志物。

[0093] 如本文中使用的,术语“单核苷酸多态性”(在本文中也称作“SNP”)指DNA序列内导致遗传变异性的单碱基替代。基因组中在一个群体中可能有超过一种碱基类型的核苷酸位置在本文中称作“多态性位点”或“多态性”。多态性位点可以是一个或多个核苷酸的核苷酸序列,插入的核苷酸或核苷酸序列,删除的核苷酸或核苷酸序列,或微卫星,例如。长度为两个或更多个核苷酸的多态性位点可以是长度为3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15或更多,20或更多,30或更多,50或更多,75或更多,100或更多,500或更多,或约1000个核苷酸,其中所有或一些核苷酸序列在该区内不同。长度为单个核苷酸的多态性位点在本文中称作SNP。当多态性位点处存在两种,三种或四种备选核苷酸序列时,每一种核苷酸序列称作“多态性变体”或“核酸变体”。DNA序列的每一种可能变体称作“等位基因”。在存在两种多态性变体的情况中,来自群体的大多数样品中呈现多态性变体称作“流行等位基因”或“主要等位基因”,而群体中不太流行的多态性变体称作“罕见等位基因”或“次要等位基因”。携带两个流行等位基因或两个罕见等位基因的个体就该多态性而言是“纯合的”。携带一个流行等位基因和一个罕见等位基因的个体就该多态性而言是“杂合的”。关于C/G或A/T SNP,等位基因是含糊的且取决于用于自基因分型平台提取数据的链。关于这些C/G或A/T SNP,C或G

核苷酸或A或T核苷酸分别可能是风险等位基因或保护等位基因,而且通过关联等位基因频率来确定。与疾病风险升高有关联或与 >1 的优势比或相对风险有关的等位基因称作“风险等位基因”或“效果等位基因”。风险等位基因或效果等位基因可以是次要等位基因或主要等位基因。与风险降低(或受益于疗法的可能性升高)有关联或与 <1 的优势比有关的等位基因称作“保护等位基因”。保护等位基因可以是次要或主要等位基因。

[0094] 如本文中使用的,“等效等位基因”或“替代等位基因”指预期表现与已发表等位基因相似的等位基因,它是基于等位基因频率和与本文中限定的已发表等位基因和/或选定SNP的高 r^2 (≥ 0.6) 和/或高 D' (≥ 0.6) 选择的。在一个实施方案中,高 r^2 是 $\geq 0.6, 0.7, 0.8, 0.9$ 或 1.0 。在一个实施方案中,高 D' 为 $\geq 0.6, 0.7, 0.8, 0.9$ 或 1.0 。

[0095] 在本文中使用时,“连锁不平衡或“LD”指处于不同基因座,随机情况下不相关(即并非与其频率成比例相关)的等位基因。如果等位基因处于阳性连锁不平衡,那么等位基因比假设统计学独立性的预期更加经常地一起发生。相反,若等位基因处于阴性连锁不平衡,那么等位基因比假设统计学独立性的预期不太经常地一起发生。在本文中使用时,“优势比”或“OR”指具有标志物(等位基因或多态性)的个体的疾病优势相对于没有标志物(等位基因或多态性)的个体的疾病优势的比。在本文中使用时,“单元型”指一条染色体上足够密切连锁以致通常作为一个单元继承的一组等位基因。

[0096] 多态性变体可以在双链核酸的两条链之一或二者上检测。还有,多态性变体可以位于基因的内含子或外显子内或调节区的一部分(诸如启动子,5'非翻译区(UTR),3'UTR)内,及在DNA(例如基因组DNA(gDNA)和互补DNA(cDNA)),RNA(例如mRNA,tRNA,和rRNA),或多肽中。多态性变异可以导致或不导致基因表达,多肽结构或多肽功能的可检测差异。

[0097] 在本文中使用时,术语“备选SNP”指预期表现与选定SNP相似的SNP,它是基于相似等位基因频率选择的且与选定SNP具有连锁不平衡,如通过 $r^2 \geq 0.6$ 和/或 $D' \geq 0.6$ 测量的。

[0098] 术语“治疗剂”指用于治疗疾病的任何药剂,包括但不限于治疗疾病的症状的药剂。

[0099] 如本文中使用的,“治疗/处理”(及其语法变型)指试图改变所治疗个体的天然过程的临床干预,并且可以在临床病理学的过程期间实施。期望的治疗效果包括但不限于缓解或改善一种或多种症状,削弱或延迟疾病的任何直接或间接病理后果的出现或恶化,降低疾病进展速率,和改善或减轻疾病状态。在一些实施方案中,使用抗体来延迟疾病的形成或减缓疾病的进展。

[0100] 如本文中使用的,术语“治疗突发”指在施用第一剂治疗剂之时发生的事件。例如,“治疗突发不良事件”指临床研究中的第一剂治疗之时或之后鉴定的事件。

[0101] “治疗方案”指在有或没有添加第二药疗的情况下,剂量,施用频率,或治疗持续时间的组合。

[0102] “有效治疗方案”指会对接受治疗的个体提供有益响应的治疗方案。

[0103] “修改治疗”指改变治疗方案,包括改变剂量,施用频率,或治疗持续时间,和/或添加第二药疗。

[0104] 药剂的“有效量”或“有效剂量”指对于必要的时间段有效实现期望结果的量或剂量。例如,“治疗有效量”指对于必要的时间段有效治疗指示疾病,状况,临床病理,或症状,即改变AD的进展过程和/或减轻和/或预防AD的一种或多种症状的量。

[0105] 本发明提供使用SNP或其它基于遗传的机制作为预测生物标志物来预测对治疗的响应和作为预后生物标志物来评估AD进展的方法,使用SNP或其它基于遗传的机制来选择治疗策略的方法,和使用SNP或其它基于遗传的机制进行患者分层的方法,包括但不限于选择患者进行临床研究或做出临床治疗决策。在本文中使用时,“患者分层”指个体的基因分型以测定响应治疗的可能性。实施基因分型来鉴定个体是否携带SNP。存在许多方法来测量特定SNP基因型。在一处或多处SNP处携带突变的个体可以通过多种技术以DNA水平检测,包括但不限于SNP阵列,Taqman,荧光极化,Sequenom(或本文所述用于分析SNP的其它方法)。用于诊断的核酸可以自患者的细胞获得,诸如来自血液,尿液,唾液,组织活检和尸检材料。

[0106] 基因组DNA可以直接用于检测,或者可以在分析基因组DNA或转录物之前通过使用PCR进行扩增。例如,将来自个体的片段化单链DNA杂交至含有无数固定化独特核苷酸探针序列的阵列。核苷酸探针序列设计成结合靶DNA序列(例如对于SNP,使用等位基因特异性探针来鉴定和分析SNP的存在或缺失)。使用检测系统来记录和解码固定化探针和来自个体的DNA之间的杂交信号(探针或DNA任一是用所检测和测量的荧光团标记的)。特定DNA序列的检测可以通过包括但不限于杂交,RNA酶保护,化学切割,直接DNA测序或使用限制酶,基因组DNA的Southern印迹,原位分析,将样品和对照核酸杂交至含有数以百计或数以千计寡核苷酸探针的高密度阵列(Cronin et al., Hum Mutat, 7 (3):244-55 (1996)) (或本文所述用于分析SNP的其它方法)的方法来实现。例如,遗传突变可以使用微阵列来鉴定(Shen et al., Mutat Res, 573 (1-2):70-82 (2005))。这些遗传测试对于将个体的群体分层入对抗AB治疗具有不同响应性的亚群是有用的。

[0107] 如本文中使用的,术语“基因分型”指测定个体遗传构成(“基因型”)中的差异的方法,包括但不限于检测DNA插入或删除的存在,多态性(SNP或其它),等位基因(包括SNP形式的次要或主要或风险等位基因,通过使用分析性或生物学测定法(或本文所述用于分析SNP的其它方法)检查个体的DNA序列来进行)。例如,可以将通过测序或其它方法学(例如本文所述用于分析SNP的其它方法)测定的个体的DNA序列与另一个个体的序列或参照序列比较。基因分型的方法是本领域普遍知道的(例如本文所述用于分析SNP的其它方法),包括但不限于基因组DNA的限制性片段长度多态性鉴定(RFLP),基因组DNA的随机扩增的多态性检测(RAPD),扩增片段长度多态性检测(AFLPD),聚合酶链式反应(PCR),DNA测序,等位基因特异性寡核苷酸(ASO)探针,和杂交至DNA微阵列或珠。类似地,可以应用这些技术来分析编码SNP或其它遗传因子的转录物。可以使用聚合酶链式反应(PCR)分析,阵列杂交或使用DNA SNP芯片微阵列(它们是商品化的,包括DNA微阵列快照)方便地对样品测定SNP。微阵列可用于测定SNP在核酸样品中是否存在或缺失。微阵列可以包括寡核苷酸,而且用于生成和使用适合于诊断性用途的寡核苷酸微阵列的方法披露于美国专利No. 5,492,806;5,525,464;5,589,330;5,695,940;5,849,483;6,018,041;6,045,996;6,136,541;6,152,681;6,156,501;6,197,506;6,223,127;6,225,625;6,229,911;6,239,273;WO 00/52625;WO 01/25485;和WO 01/29259。

[0108] 在一些实施方案中,临床医生可以使用基因分型来指导适宜的治疗规程用于最需要它们的个体。例如,对一项研究中的受试者进行基因分型,并分类入(1)有利地响应治疗的群体,和(2)没有显著响应治疗的群体,和(3)不利地响应治疗的群体。基于该结果,对受试者进行基因分型以预测该受试者是否有可能或不可能有利地响应治疗。可以筛选治疗的

临床试验中的潜在参与者以鉴定那些最有可能有利地响应治疗的。如此,可以在正面响应药物的个体中测量药物治疗的有效性。如此,一个实施方案是一种选择要包括在治疗的临床试验中的个体的方法,其包括下述步骤:(a)自个体获得核酸样品,(b)测定与对治疗的阳性响应有关的多态性变体或与对治疗的响应缺乏或降低有关的多态性变体的存在。在另一个实施方案中,本发明包括一种为治疗选择个体的方法,其包括下述步骤:(a)自个体获得核酸样品,(b)测定与对治疗的阳性响应有关的多态性变体的存在,和(c)通过施用该治疗来治疗该个体。

[0109] 术语“等位基因特异性引物”或“AS引物”指引物与靶序列的多于一种变体杂交但能够在靶序列的变体之间区分(即只对变体之一,引物在合适条件下通过核酸聚合酶有效延伸)。对于靶序列的其它变体,延伸不太有效或无效。在延伸不太有效或无效的情况中,信号实质性强度更低或优选落到检测限度以下。

[0110] 术语“等位基因特异性探针”或“AS探针”指与靶序列的多于一种变体杂交但能够在靶序列的变体之间区分(即只对变体之一产生可检测信号)的探针。对于靶序列的其它变体,信号实质性强度更低或优选落到检测限度以下。

[0111] 术语“主要序列”指多核苷酸或寡核苷酸中的核苷酸序列。核苷酸修饰(诸如含氮碱基修饰,糖修饰或其它主链修饰)不是主要序列的一部分。标记物(诸如缀合至寡核苷酸的发色团)也不是主要序列的一部分。如此,两条寡核苷酸可以分享相同的主要序列但在修饰和标记物方面不同。

[0112] 杂交反应的“严格性”可以由本领域普通技术人员容易的确定,而且通常根据探针长度,清洗温度和盐浓度凭经验计算。一般而言,较长的探针要求较高的温度以正确退火,而较短的探针需要较低的温度。杂交通常依赖于当互补链存在于低于其解链温度的环境中时变性DNA重新退火的能力。探针与可杂交序列之间的期望同源性程度越高,可使用的相对温度也越高。结果,可推出较高相对温度将趋向于使反应条件更为严格,而较低温度也就较不严格。关于杂交反应严格性的其它细节和解释,参见Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience Publishers, 1995。

[0113] 如本文中所定义的,“严格条件”或“高严格条件”可以定义如下:(1)对于清洗使用低离子强度和高温,例如0.015M氯化钠/0.0015M柠檬酸钠/0.1%十二烷基硫酸钠,50℃;(2)在杂交期间使用变性剂,诸如甲酰胺,例如,50%(v/v)甲酰胺及0.1%牛血清清蛋白/0.1%Ficoll/0.1%聚乙烯吡咯烷酮/具有750mM氯化钠,75mM柠檬酸钠的50mM磷酸钠缓冲液pH 6.5,42℃,或(3)在使用50%甲酰胺,5x SSC(0.75M NaCl,0.075M柠檬酸钠),50mM磷酸钠(pH6.8),0.1%焦磷酸钠,5x Denhardt氏溶液,超声处理的鲑精DNA(50μg/ml),0.1% SDS和10%硫酸右旋糖苷的溶液于42℃杂交过夜,于42℃在0.2x SSC(氯化钠/柠檬酸钠)中清洗10分钟,接着是于55℃由含有EDTA的0.1x SSC组成的10分钟高严格清洗。

[0114] “中等严格条件”可以如Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, New York, Cold Spring Harbor Press, 1989中所述来鉴定,包括使用比上文所述较不严格的清洗溶液和杂交条件(例如温度,离子强度和%SDS)。中等严格条件的例子是于37℃在含20%甲酰胺,5x SSC(150mM NaCl,15mM柠檬酸三钠),50mM磷酸钠(pH 7.6),5x Denhardt氏溶液,10%硫酸右旋糖苷,和20mg/ml变性剪切的鲑鱼精DNA的溶液中温育过夜,接着于大约37-50℃在1x SSC中清洗滤膜。熟练技术人员将认识到如何在必要时调整温度,

离子强度等以适应诸如探针长度等因素。

[0115] “亲和力”或“结合亲和力”指分子(例如抗体)的单一结合位点与其结合配偶(例如抗原)之间全部非共价相互作用总和的强度。除非另有说明,如本文中使用的,“结合亲和力”指反映结合对的成员(例如抗体和抗原结合臂)之间1:1相互作用的内在结合亲和力。分子X对其配偶Y的亲和力通常可用解离常数(Kd)来表述。亲和力可通过本领域知道的常用方法来测量,包括本文中所描述的那些,其中任一种都可用于本发明的目的。用于测量结合亲和力的具体示例性和例示性实施方案在本文中有描述。

[0116] “亲和力成熟的”抗体指与不拥有此类改变的亲本抗体相比,在一个或多个高变区(HVR)中具有一处或多处改变的抗体,此类改变导致该抗体对抗原的亲和力改善。

[0117] 如本文中使用的,术语“患者”指想要治疗的任何单一受试者。在某些实施方案中,本文中的患者是人。

[0118] “受试者”在本文中通常指人。在某些实施方案中,受试者是非人哺乳动物。例示性的非人哺乳动物包括实验,家畜,宠物,运动,和繁殖动物,例如小鼠,猫,犬,马,和牛。典型地,受试者对于治疗是适格的,例如展示疾病的一项或多项标志。一般而言,此类受试者或患者对于针对淀粉样变(例如AD)的治疗是适格的。在一个实施方案中,此类适格受试者或患者是正在或已经经历AD的一种或多种体征,症状,或其它指标的或已经诊断有AD,无论例如新诊断的,先前诊断的或有风险发生AD。AD的诊断可以基于临床史,临床检查,和已建立的成像模态来进行。“患者”或“受试者”在本文中包括正在或已经经历AD的一种或多种体征,症状,或其它指标的治疗适格的任何单个人受试者。意图包括作为受试者的是任何参与临床研究试验的受试者,或参与流行病学研究的受试者,或曾经用作对照的受试者。受试者可以先前已经用抗AB抗体或其抗原结合片段或另一种药物治疗过,或者未曾如此治疗过。受试者可以是在开始本文中的治疗时对所使用的别的药物是幼稚的,即受试者可以是在“基线”时先前未曾用例如除抗AB以外的疗法治疗过(即在本文中的治疗方法中施用第一剂抗AB之前的一个设点时间点,诸如在开始治疗之前筛选受试者的日子)。此类“幼稚”受试者一般认为是用此类别的药物治疗的候选者。

[0119] 如本文中使用的,受试者的“终身”指开始治疗之后受试者的剩余生命。

[0120] 如本文中使用的,术语“单克隆抗体”指自基本上同质的抗体群体获得的抗体,即除了可能以极少量存在的可能的天然发生突变以外,构成群体的抗体个体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,针对单一抗原。而且,与典型的包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物不同,每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。

[0121] 单克隆抗体在本文中特别包括“嵌合”抗体,其中重和/或轻链的一部分与衍生自特定物种或属于特定抗体类或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的其余部分与衍生自另一物种或属于另一抗体类或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,以及此类抗体的片段,只要它们展现期望的生物学活性(美国专利No.4,816,567;Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。

[0122] 抗体的“类”指其重链拥有的恒定域或恒定区的类型。抗体有5大类:IgA,IgD,IgE,IgG,和IgM,并且这些中的几种可以进一步分成亚类(或“同种型”),例如,IgG₁,IgG₂,IgG₃,IgG₄,IgA₁,和IgA₂。与不同类免疫球蛋白对应的重链恒定域分别称作 α , δ , ϵ , γ ,和 μ 。

[0123] 非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式指最低限度包含衍生自非人免疫球蛋白的序

列的嵌合抗体。在极大程度上,人源化抗体指人免疫球蛋白(受体抗体)中的高变区残基用具有期望特异性,亲和力和能力的非人物种(供体抗体)诸如小鼠,大鼠,家兔或非人灵长类动物的高变区残基替换的免疫球蛋白。在有些情况中,将人免疫球蛋白的框架区(FR)残基用相应的非人残基替换。此外,人源化抗体可包含在受体抗体或供体抗体中没有找到的残基。进行这些修饰是为了进一步改进抗体的性能。一般而言,人源化抗体将包含至少一个,通常两个基本上整个如下可变域,其中所有或基本上所有高变环对应于非人免疫球蛋白的高变环,且所有或基本上所有FR是人免疫球蛋白序列的FR。人源化抗体任选还将包含至少部分免疫球蛋白恒定区(Fc),通常是人免疫球蛋白的恒定区。更多细节参见Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); 和Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)。还可参见以下综述及其引用的参考文献: Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma and Immunol.*, 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions*, 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, *Curr. Op. Biotech.*, 5:428-433 (1994)。

[0124] “人抗体”指包含与由人或人细胞生成的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列和/或自利用人抗体全集或其它人抗体编码序列的非人来源衍生的例如使用本文所公开的用于生成成人抗体的任何技术生成的抗体。此类技术包括但不限于筛选人衍生的组合文库,诸如噬菌体展示库(参见例如Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) 和Hoogenboom et al., *Nucl. Acids Res.*, 19:4133-4137 (1991)); 使用人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系来生成单克隆抗体(参见例如Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp.55-93 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 和Boerner et al., *J. Immunol.*, 147:86 (1991)); 和在能够在内源免疫球蛋白生成缺失下生成成人抗体完整全集的转基因动物(例如小鼠)中生成单克隆抗体(参见例如Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature*, 362:255 (1993); Bruggermann et al., *Year in Immunol.*, 7:33 (1993))。人抗体的这一定义明确排除包含来自非人动物的抗原结合残基的人源化抗体。

[0125] “分离的”抗体指已经鉴定并与/自其天然环境的成分分开和/或回收的抗体。其天然环境的污染性成分指会干扰抗体的诊断或治疗用途的材料,而且可以包括酶,激素,和其它蛋白质性质或非蛋白质性质溶质。在一些实施方案中,抗体纯化至大于95%或99%的纯度,如通过例如电泳(例如SDS-PAGE, 等电聚焦(IEF), 毛细管电泳)或层析(例如离子交换或反相HPLC)测定的。关于用于评估抗体纯度的方法的综述,参见例如Flatman et al., *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)。

[0126] 术语“可变区”或“可变域”指抗体重或轻链中牵涉抗体结合抗原的域。天然抗体的重链和轻链可变域(分别为VH和VL)一般具有相似的结构,其中每一个域包含4个保守的框架区(FR)和3个高变区(HVR)(参见例如Kindt et al., *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007))。单个VH或VL域可能足以赋予抗原结合特异性。此外,可以分别使用来自结合特定抗原的抗体的VH或VL域筛选互补VL或VH域的文库来分离结合该抗原的抗体。参见例如Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991))。

[0127] 术语“高变区”，“HVR”或“HV”在用于本文时指抗体可变域中序列上高变和/或形成结构上定义的环的区域。通常，抗体包含六个高变区：三个在VH中(H1,H2,H3)，三个在VL中(L1,L2,L3)。本文中使用且涵盖许多高变区的叙述。Kabat互补决定区(CDR)是以序列变异性为基础的，而且是最常用的(Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。Chothia改为指结构环的位置(Chothia和Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。AbM高变区代表Kabat CDR与Chothia结构环之间的折衷，而且得到Oxford Molecular的AbM抗体建模软件的使用。“接触”高变区是以对可获得的复合物晶体结构的分析为基础的。下文记录了这些HVR中每一个的残基。

[0128]

环	Kabat	AbM	Chothia	接触
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (Kabat编号方式)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (Chothia编号方式)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0129] 高变区可包括如下“延伸的高变区”：VL中的24-36或24-34 (L1)，46-56或49-56或50-56或52-56 (L2) 和89-97 (L3) 及VH中的26-35 (H1)，50-65或49-65 (H2) 和93-102, 94-102, 或95-102 (H3)。对于这些定义中的每一个，可变域残基是依照Kabat等，见上文编号的。

[0130] “框架”或“FR”残基指那些除本文中定义的高变区残基外的可变域残基。一般地，可变域的FR由4个FR域组成：FR1, FR2, FR3, 和FR4。因而，HVR和FR序列在VH(或VL)中一般以如下的顺序出现：FR1-H1 (L1) -FR2-H2 (L2) -FR3-H3 (L3) -FR4。

[0131] 出于本文中的目的，“受体人框架”指包含自人免疫球蛋白框架或如下文定义的人共有框架衍生的轻链可变域(VL)框架或重链可变域(VH)框架的氨基酸序列的框架。自人免疫球蛋白框架或人共有框架“衍生”的受体人框架可以包含其相同的氨基酸序列，或者它可以含有氨基酸序列变化。在一些实施方案中，氨基酸变化的数目是10或更少，9或更少，8或更少，7或更少，6或更少，5或更少，4或更少，3或更少，或2或更少。在一些实施方案中，VL受体人框架与VL人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列在序列上相同。

[0132] “人共有框架”指代表人免疫球蛋白VL或VH框架序列选集中最常存在的氨基酸残基的框架。通常，人免疫球蛋白VL或VH序列选集来自可变域序列亚组。通常，序列亚组是如Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第1-3卷中的亚组。

[0133] 术语“淀粉状蛋白相关成像异常-水肿”或“ARIA-E”涵盖脑血管原性水肿和脑沟积液(sulcal effusion)。

[0134] 术语“淀粉状蛋白相关成像异常-出血”或“ARIA-H”涵盖微出血和中枢神经系统的

表面铁沉着。

[0135] “载脂蛋白E4携带者”或“ApoE4携带者”在本文中“载脂蛋白E4阳性”或“ApoE4阳性”可互换使用,指具有至少一个载脂蛋白E4(或“ApoE4”)等位基因的个体。具有零个ApoE4等位基因的个体在本文中称作“ApoE4阴性”或“非ApoE4携带者”。还可参见Prekumar et al.,1996,Am.J Pathol.148:2083-95。

[0136] 术语“脑血管原发性水肿”指脑的细胞内或细胞外空间中血管内流体或蛋白质的过度积累。脑血管原发性水肿是通过例如脑MRI(包括但不限于FLAIR MRI)可检测的,而且可以是无症状的(“无症状性血管原发性水肿”)或与神经学症状有关,诸如意识错乱,头晕,呕吐,和嗜睡(“症状性血管原发性水肿”)(参见Sperling et al.,Alzheimer's&Dementia,7:367,2011)。

[0137] 术语“脑大出血”指直径大于约1cm的区域的颅内出血或脑中出血。脑大出血是通过例如脑MRI(包括但不限于T2*-加权GRE MRI)可检测的,而且可以是无症状的(“无症状性大出血”)或与诸如暂时或永久局灶性运动或感觉受损,共济失调,失语,和构音困难等症状有关(“症状性大出血”)(参见例如Chalela JA,Gomes J.Expert Rev.Neurother.2004 4:267,2004和Sperling et al.,Alzheimer's&Dementia,7:367,2011)。

[0138] 术语“脑微出血”指直径小于约1cm的区域的颅内出血或脑中出血。脑微出血是通过例如脑MRI(包括但不限于T2*-加权GRE MRI)可检测的,而且可以是无症状的(“无症状性微出血”)或可能潜在与诸如暂时或永久局灶性运动或感觉受损,共济失调,失语,和构音困难等症状有关(“症状性微出血”)。参见例如Greenberg et al.,2009,Lancet Neurol.8:165-74。

[0139] 术语“脑沟积液”(sulcal effusion)指脑的槽或沟中流体的渗出。脑沟积液是通过例如脑MRI可检测的,包括但不限于FLAIR MRI。参见Sperling et al.,Alzheimer's&Dementia,7:367,2011。

[0140] 术语“中枢神经系统的表面铁沉着”指流血或出血入脑的蛛网膜下隙,而且是通过例如脑MRI可检测的,包括但不限于T2*-加权的GRE MRI。指示中枢神经系统的表面铁沉着症状包括感觉神经性聋,小脑性共济失调,和锥体束征。参见Kumara-N,Am J Neuroradiol.31:5,2010。

[0141] 如本文中使用的,术语“进展”指疾病随时间的恶化。疾病的“进展速率”或“进展的速率”指诊断有疾病的患者中疾病随时间发展有多快或慢。疾病的进展速率可以通过疾病的特定特征随时间的可测量变化来代表。如果携带特定遗传性状的患者的疾病状态比那些没有此类遗传性状的患者进展更快,那么就说其具有或更加可能具有“升高的进展速率”。另一方面,如果响应疗法的患者的疾病进展在疗法之后与其在治疗之前的疾病状态或与没有治疗的其他患者相比减缓,那么就说其具有或更加可能具有“降低的进展速率”。

[0142] 如本文中使用的,“更加可能响应”指最有可能展现淀粉样变(例如AD)进展减缓或阻止的患者。就AD而言,“更加可能响应”指凭借治疗最有可能展现功能或认知损失减轻的患者。短语“对……响应的”在本发明的背景中指示罹患或怀疑患有或倾向于患上或诊断有本文所述病症的患者对抗Aβ治疗显示响应。

[0143] 如本文中使用的,短语“选择患者”或“鉴定患者”指使用涉及患者的样品中等位基因的存在生成的信息或数据来鉴定或选择患者为更加可能受益于包含抗Aβ抗体的治疗。所

使用或生成的信息或数据可以是任何形式,书面的,口头的或电子的。在一些实施方案中,使用所生成的信息或数据包括传达,呈现,报告,存储,发送,传递,供应,传输,分发,或其组合。在一些实施方案中,传达,呈现,报告,存储,发送,传递,供应,传输,分发,或其组合是通过计算装置,分析单元或其组合实施的。在一些进一步的实施方案,传达,呈现,报告,存储,发送,传递,供应,传输,分发,或其组合是由实验室或医学专业人员实施的。在一些实施方案中,信息或数据包括指出样品中存在或缺失特定等位基因。在一些实施方案中,信息或数据包括指出患者更加可能响应包含抗Aβ的疗法。

[0144] “效应器功能”指那些可归于抗体Fc区且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应器功能的例子包括:C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体)下调;和B细胞活化。本领域知道野生型IgG4抗体具有比野生型IgG1抗体要小的效应器功能。

[0145] 本文中的术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链中至少含有恒定区一部分的C端区。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个实施方案中,人IgG重链Fc区自Cys226,或自Pro230延伸至重链的羧基端。然而,Fc区的C端赖氨酸(Lys447)可以存在或不存在。除非本文中另有规定,Fc区或恒定区中的氨基酸残基的编号方式依照EU编号系统,又称作EU索引,如记载于Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991。

[0146] 术语“全长抗体”,“完整抗体”,和“全抗体”在本文中可互换使用,指与天然抗体结构具有基本上类似的结构或者具有含有如本文中所限定的Fc区的重链的抗体。

[0147] 术语“宿主细胞”,“宿主细胞系”,和“宿主细胞培养物”可互换使用,并且指已经导入外源核酸的细胞,包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”,其包括原代的经转化的细胞及自其衍生的后代而不考虑传代的次数。后代在核酸内容物上可以与亲本细胞不完全相同,而是可以含有突变。本文中包括具有与在初始转化细胞中筛选或选择的相同功能或生物学活性的突变体后代。

[0148] “免疫缀合物”指与一种或多种异源分子,包括但不限于别的治疗剂缀合的抗体。

[0149] “分离的核酸”指已经与其天然环境的组分分开的核酸分子。分离的核酸包括通常含有核酸分子的细胞中含有的核酸分子,但是核酸分子在染色体外或在与其天然染色体位置不同的染色体位置处存在。

[0150] “编码抗Aβ抗体的分离的核酸”指编码抗体重和轻链(或其片段)的一种或多种核酸分子,包括单一载体或不同载体中的此类核酸分子,和存在于宿主细胞中的一个或多个位置的此类核酸分子。

[0151] 如本文中使用的(例如“诊断有早期AD的患者”或“罹患早期AD的患者”),术语“早期阿尔茨海默氏病”或“早期AD”包括具有AD所致轻度认知损害,诸如记忆缺陷的患者和具有AD生物标志物的患者,例如淀粉状蛋白阳性患者。

[0152] 如本文中使用的(例如“诊断有轻度AD的患者”),术语“轻度阿尔茨海默氏病”或“轻度AD”指特征在于MMSE得分为20至26的AD阶段。

[0153] 如本文中使用的,术语“轻度至中度阿尔茨海默氏病”或“轻度至中度AD”涵盖轻度和中度AD二者,而且特征在于MMSE得分为18至26。

[0154] 如本文中使用的(例如“诊断有中度AD的患者”),术语“中度阿尔茨海默氏病”或

“中度AD”指特征在于MMSE得分为18至19的AD阶段。

[0155] “裸抗体”指未与异源模块(例如别的治疗性模块)或放射性标记物缀合的抗体。裸抗体可以存在于药物配制剂中。

[0156] “天然抗体”指具有不同结构的天然存在的免疫球蛋白分子。例如,天然IgG抗体是约150,000道尔顿的异四聚糖蛋白,由二硫化物键合的两条相同轻链和两条相同重链构成。从N至C端,每条重链具有一个可变区(VH),又称作可变重域或重链可变域,接着是三个恒定域(CH1,CH2,和CH3)。类似地,从N至C端,每条轻链具有一个可变区(VL),又称作可变轻域或轻链可变域,接着是一个恒定轻(CL)域。根据其恒定域氨基酸序列,抗体轻链可归入两种类型中的一种,称作卡帕(κ)和拉姆达(λ)。

[0157] 术语“包装插页”用于指治疗性产品的商业包装中通常包含的用法说明书,其含有关于涉及此类治疗性产品应用的适应症,用法,剂量,施用,联合疗法,禁忌症和/或警告的信息。术语“包装插页”还用于指诊断性产品的商业包装中通常包含的用法说明书,其含有关于预定用途,测试原理,试剂的制备和操作,标本收集和制备,测定法的校准和测定法规程,性能和精确数据诸如测定法的灵敏度和特异性的信息。

[0158] 关于参照多肽序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”定义为比对序列并在必要时引入缺口以获取最大百分比序列同一性后,且不将任何保守替代视为序列同一性的一部分时,候选序列中与参照多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分率。为测定百分比氨基酸序列同一性目的的对比可以以本领域技术范围内的多种方式进行,例如使用公众可得到的计算机软件,诸如BLAST,BLAST-2,ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以决定用于比对序列的合适参数,包括对所比较序列全长获得最大对比所需的任何算法。然而,为了本发明的目的,%氨基酸序列同一性值是使用序列比较计算机程序ALIGN-2产生的。ALIGN-2序列比较计算机程序由Genentech, Inc. 编写,并且源代码已经连同用户文档一起提交给美国版权局(US Copyright Office, Washington D.C., 20559),其中其以美国版权注册号TXU510087注册。公众自Genentech, Inc., South San Francisco, California可获得ALIGN-2程序,或者可以从源代码编译。ALIGN2程序应当编译成在UNIX操作系统,包括数码UNIX V4.0D上使用。所有序列比较参数由ALIGN-2程序设定且不变。

[0159] 在采用ALIGN-2来比较氨基酸序列的情况中,给定氨基酸序列A相对于(to),与(with),或针对(against)给定氨基酸序列B的%氨基酸序列同一性(或者可表述为具有或包含相对于,与,或针对给定氨基酸序列B的某一%氨基酸序列同一性的给定氨基酸序列A)如下计算:

[0160] $100 \times \text{分数}(X/Y)$

[0161] 其中X是由序列比对程序ALIGN-2在该程序的A和B比对中评分为相同匹配的氨基酸残基数,且其中Y是B中的氨基酸残基总数。应当领会,若氨基酸序列A的长度与氨基酸序列B的长度不相等,则A相对于B的%氨基酸序列同一性将不等于B相对于A的%氨基酸序列同一性。除非另有明确说明,本文中所使用的所有%氨基酸序列同一性值都是依照上一段所述,使用ALIGN-2计算机程序获得的。

[0162] 术语“药物配制剂”和“药物组合物”在本文中可互换使用,指处于如下的形式,使得容许其中含有的活性成分的生物学活性是有效的,且不含对会接受配制剂施用的受试者具有不可接受的毒性的别的组分的制剂。

[0163] “药学可接受载剂”指药物配制剂中与活性成分不同的,且对受试者无毒的成分。药学可接受载剂包括但不限于缓冲剂,赋形剂,稳定剂,或防腐剂。

[0164] 如本文中使用的,术语“载体”指能够增殖与其连接的另一种核酸的核酸分子。该术语包括作为自身复制型核酸结构的载体及整合入接受其导入的宿主细胞的基因组中的载体。某些载体能够指导与其可操作连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0165] “成像剂”指具有一种或多种允许直接或间接检测其存在和/或位置的特性的化合物。此类成像剂的例子包括掺入允许检测的标记模块的蛋白质和小分子化合物。

[0166] “标记物”指与要用于检测或成像的分子偶联的标志物。此类标记物的例子包括:放射性标记物,荧光团,发色团,或亲和标签。在一个实施方案中,标记物是用于医学成像的放射性标记物,例如^{99m}Tc或¹¹²I,或用于核磁共振(NMR)成像(也称作磁共振成像,mri)的自旋标记物,诸如再次的碘-123,碘-131,铟-111,氟-19,碳-13,氮-15,氧-17,钆,锰,铁,等。

[0167] 方法和组合物

[0168] 本公开文本提供用于会是抗AB抗体治疗的较好候选者的有风险或具有淀粉样变(包括AD)的患者的治疗,预后,选择和/或鉴定的组合物和方法。一方面,本发明部分基于改良的治疗方法。

[0169] 在某些实施方案中,提供结合AB的抗体。本发明的抗体对于例如阿尔茨海默氏病(“AD”)和其它疾病的诊断或治疗是有用的。

[0170] 例示性抗体

[0171] 一方面,本发明提供分离的结合AB的抗体。在某些实施方案中,本发明提供能以较好的亲和力结合单体,寡聚体和原纤维形式的人AB的抗AB抗体。在一个实施方案中,抗AB抗体是结合AB残基13-24内的AB表位的抗体。在一个此类实施方案中,抗体是克瑞珠单抗。

[0172] 在一个实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:5所列重链氨基酸序列和SEQ ID NO:9所列轻链氨基酸序列。在另一个实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:5所列氨基酸序列的氨基酸1至112的重链可变区和SEQ ID NO:9所列氨基酸序列的氨基酸1至112的轻链可变区。在另一个实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:9的HVR序列。在另一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:9的HVR序列具有95%,96%,97%,98%,或99%或更多同一性的HVR序列。

[0173] 在任何上述实施方案中,抗AB抗体是人源化的。在一个实施方案中,抗AB抗体包含任何上述实施方案中的HVR,而且进一步包含受体人框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。

[0174] 另一方面,抗AB抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:5的氨基酸1至112具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的重链可变域(VH)序列。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VH序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗AB抗体保留结合AB的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:5中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗AB抗体包含SEQ ID NO:5中的VH序列,包括该序列的翻

译后修饰。

[0175] 另一方面,提供一种抗AB抗体,其中该抗体包含与氨基酸序列SEQ ID NO:9的氨基酸1至112具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,99%,或100%序列同一性的轻链可变域(VL)。在某些实施方案中,具有至少90%,91%,92%,93%,94%,95%,96%,97%,98%,或99%同一性的VL序列相对于参照序列包含替代(例如保守替代),插入,或删除,但是包含该序列的抗AB抗体保留结合AB的能力。在某些实施方案中,在SEQ ID NO:9中替代,插入和/或删除了总共1至10个氨基酸。在某些实施方案中,替代,插入,或删除发生在HVR以外的区域中(即在FR中)。任选地,抗AB抗体包含SEQ ID NO:9中的VH序列,包括该序列的翻译后修饰。

[0176] 另一方面,提供抗AB抗体,其中该抗体包含上文提供的任何实施方案中的VH和上文提供的任何实施方案中的VL。

[0177] 又一方面,本发明提供与本文中提供的抗AB抗体结合相同表位的抗体。例如,在某些实施方案中,提供与包含VH序列SEQ ID NO:5和VL序列SEQ ID NO:9的抗AB抗体结合相同表位的抗体。

[0178] 在本发明的又一方面,依照任何上述实施方案的抗AB抗体是单克隆抗体,包括嵌合抗体,人源化抗体或人抗体。在一个实施方案中,抗AB抗体是抗体片段,例如Fv,Fab,Fab',scFv,双抗体,或F(ab')₂片段。在另一个实施方案中,该抗体是全长抗体,例如完整IgG4抗体或其它抗体类或同种型,如本文中定义的。在另一个实施方案中,该抗体是双特异性抗体。

[0179] 又一方面,依照任何上述实施方案的抗AB抗体可单一地或组合地并入下文1-7节中描述的任何特征。

[0180] 在一个实施方案中,抗AB抗体包含包含氨基酸序列SEQ ID NO:6的HVR-L1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:7的HVR-L2;包含氨基酸序列SEQ ID NO:8的HVR-L3;包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HVR-H1;包含氨基酸序列SEQ ID NO:3的HVR-H2;和包含氨基酸序列SEQ ID NO:4的HVR-H3。

[0181] 在另一个实施方案中,抗体包含重链和轻链序列SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:9。

[0182] 在另一个实施方案中,抗体包含SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:9中的可变区序列。

[0183] 在任何上述实施方案中,抗AB抗体可以是人源化的。在一个实施方案中,抗AB抗体包含任何上述实施方案中的HVR,而且进一步包含受体人框架,例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。

[0184] 1. 抗体亲和力

[0185] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$, $\leq 100\text{nM}$, $\leq 10\text{nM}$, $\leq 1\text{nM}$, $\leq 0.1\text{nM}$, $\leq 0.01\text{nM}$,或 $\leq 0.001\text{nM}$ 的解离常数(Kd)(例如 10^{-8}M 或更少,例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ,例如, 10^{-9}M 至 10^{-13}M)。

[0186] 在一个实施方案中,Kd是通过如下述测定法所述用Fab型式的感兴趣抗体及其抗原实施的放射性标记抗原结合测定法(RIA)测量的。通过在存在未标记抗原的滴定系列的情况中用最小浓度的(¹²⁵I)标记抗原平衡Fab,然后用抗Fab抗体包被板捕捉结合的抗原来测量Fab对抗原的溶液结合亲和力(见例如Chen等,J.Mol.Biol.293:865-881(1999))。为了建立测定法的条件,将MICROTITER®多孔板(Thermo Scientific)用50mM碳酸钠(pH

9.6) 中的5 μ g/ml捕捉用抗Fab抗体 (Cappel Labs) 包被过夜,随后用PBS中的2% (w/v) 牛血清清蛋白于室温(约23 $^{\circ}$ C) 封闭2-5小时。在非吸附板 (Nunc#269620) 中,将100pM或26pM [125 I]-抗原与连续稀释的感兴趣Fab (例如与Presta等,Cancer Res.57:4593-4599 (1997) 中抗VEGF抗体,Fab-12的评估一致) 混合。然后将感兴趣的Fab温育过夜;然而,温育可持续更长时间 (例如约65小时) 以确保达到平衡。此后,将混合物转移至捕捉板,于室温温育 (例如1小时)。然后除去溶液,并用PBS中的0.1% 聚山梨酯20(TWEEN-20 $^{\circ}$)洗板8次。平板干燥后,加入150 μ l/孔闪烁液 (MICROSCINT-20 $^{\text{TM}}$;Packard),然后在TOPCOUNT $^{\text{TM}}$ 伽马计数器 (Packard) 上对平板计数10分钟。选择各Fab给出小于或等于最大结合之20%的浓度用于竞争性结合测定法。

[0187] 依照另一个实施方案,Kd是使用表面等离子共振测定法使用 **BIACORE $^{\circ}$ -2000**或**BIACORE $^{\circ}$ -3000** (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) 于25 $^{\circ}$ C使用固定化抗原CM5芯片在约10个响应单位 (RU) 测量的。简言之,依照供应商的用法说明书用盐酸N-乙基-N'-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺 (EDC) 和N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 活化羧甲基化右旋糖苷生物传感器芯片 (CM5, BIAcore, Inc.)。将抗原用10mM乙酸钠pH 4.8稀释至5 μ g/ml (约0.2 μ M),然后以5 μ l/分钟的流速注射以获得约10个响应单位 (RU) 的偶联蛋白质。注入抗原后,注入1M乙醇胺以封闭未反应基团。为了进行动力学测量,于25 $^{\circ}$ C以约25 μ l/分钟的流速注入在含0.05% 聚山梨酯20 (TWEEN-20 $^{\text{TM}}$) 表面活性剂的PBS (PBST) 中两倍连续稀释的Fab (0.78nM至500nM)。使用简单一对朗格缪尔 (Langmuir) 结合模型 (**BIACORE $^{\circ}$ Evaluation Software version 3.2**) 通过同时拟合结合和解离传感图计算结合速率(k_{on})和解离速率(k_{off})。平衡解离常数(Kd)以比率 $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 计算。见例如Chen等,J.Mol.Biol.293:865-881 (1999)。如果根据上文表面等离子共振测定法,结合速率超过 $10^6\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$,那么结合速率可使用荧光淬灭技术来测定,即根据分光计诸如配备了断流装置的分光光度计 (Aviv Instruments) 或8000系列SLM-AMINCO $^{\text{TM}}$ 分光光度计 (ThermoSpectronic) 中用搅拌比色杯的测量,在存在浓度渐增的抗原的情况下,测量PBS pH 7.2中20nM抗抗原抗体 (Fab形式) 于25 $^{\circ}$ C的荧光发射强度(激发=295nm;发射=340nm,16nm带通)的升高或降低。

[0188] 2. 抗体片段

[0189] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是抗体片段。抗体片段包括但不限于Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab') $_2$, Fv, 和scFv片段,及下文所描述的其它片段。关于某些抗体片段的综述,见Hudson等,Nat.Med.9:129-134 (2003)。关于scFv片段的综述,见例如Pluckthün,于The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,第113卷,Rosenburg和Moore编,(Springer-Verlag, New York),第269-315页(1994);还可见WO 93/16185;及美国专利No.5,571,894和5,587,458。关于包含补救受体结合表位残基,并且具有延长的体内半衰期的Fab和F(ab') $_2$ 片段的讨论,见美国专利No.5,869,046。

[0190] 双抗体是具有两个抗原结合位点的抗体片段,其可以是二价的或双特异性的。见例如EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson等,Nat.Med.9:129-134 (2003);及Hollinger等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:6444-6448 (1993)。三抗体和四抗体也记载于Hudson等,Nat.Med.9:129-134 (2003)。

[0191] 单域抗体是包含抗体的整个或部分重链可变域或整个或部分轻链可变域的抗体片段。在某些实施方案中,单域抗体是人单域抗体 (Domantis, Inc., Waltham, MA; 见例如美

国专利No.6,248,516B1)。在某些实施方案中,可以将两个或更多个单域抗体连接到一起以形成具有多价亲和力的免疫球蛋白构建物(即可以将第一单域抗体的N或C端融合或以其它方式连接至第二单域抗体的N或C端)。

[0192] 可以通过多种技术,包括但不限于对完整抗体的蛋白水解消化及重组宿主细胞(例如大肠杆菌或噬菌体)的生成来生成抗体片段,如本文中所描述的。

[0193] 3. 嵌合抗体和人源化抗体

[0194] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体记载于例如美国专利No.4,816,567;及Morrison等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984)。在一个例子中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,自小鼠,大鼠,仓鼠,家兔,或非人灵长类,诸如猴衍生的可变区)和人恒定区。在又一个例子中,嵌合抗体是“类转换的”抗体,其中类或亚类已经自亲本抗体的类或亚类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

[0195] 在某些实施方案中,嵌合抗体是人源化抗体。通常,将非人抗体人源化以降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。一般地,人源化抗体包含一个或多个可变域,其中HVR,例如CDR(或其部分)自非人抗体衍生,而FR(或其部分)自人抗体序列衍生。任选地,人源化抗体还会至少包含人恒定区的一部分。在一些实施方案中,将人源化抗体中的一些FR残基用来自非人抗体(例如衍生HVR残基的抗体)的相应残基替代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0196] 人源化抗体及其生成方法综述于例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008),并且进一步记载于例如Riechmann等,Nature 332:323-329(1988); Queen等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 86:10029-10033(1989);美国专利No.5,821,337,7,527,791,6,982,321和7,087,409;Kashmiri等,Methods 36:25-34(2005)(描述了SDR(a-CDR)嫁接);Padlan,Mol.Immunol.28:489-498(1991)(描述了“重修表面”);Dall'Acqua等,Methods 36:43-60(2005)(描述了“FR改组”);及Osborn等,Methods 36:61-68(2005)和Klimka等,Br.J.Cancer,83:252-260(2000)(描述了FR改组的“引导选择”方法)。

[0197] 可以用于人源化的人框架区包括但不限于:使用“最佳拟合(best-fit)”方法选择的框架区(见例如Sims等,J.Immunol.151:2296(1993));自轻或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列衍生的框架区(见例如Carter等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285(1992);及Presta等,J.Immunol.,151:2623(1993));人成熟的(体细胞突变的)框架区或人种系框架区(见例如Almagro和Fransson,Front.Biosci.13:1619-1633(2008));和通过筛选FR文库衍生的框架区(见例如Baca等,J.Biol.Chem.272:10678-10684(1997)及Rosok等,J.Biol.Chem.271:22611-22618(1996))。

[0198] 4. 人抗体

[0199] 在某些实施方案中,本文中提供的抗体是人抗体。可以使用本领域中已知的多种技术来生成人抗体。一般地,人抗体记载于van Dijk和van de Winkel,Curr.Opin.Pharmacol.5:368-74(2001)及Lonberg,Curr.Opin.Immunol.20:450-459(2008)。

[0200] 可以通过对转基因动物施用免疫原来制备人抗体,所述转基因动物已经修饰为响应抗原性攻击而生成完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有所有或部分人免疫球蛋白基因座,其替换内源免疫球蛋白基因座,或者其在染色体外存在或随机整

合入动物的染色体中。在此类转基因小鼠中,一般已经将内源免疫球蛋白基因座灭活。关于自转基因动物获得人抗体的方法的综述,见Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)。还可见例如美国专利No. 6,075,181和6,150,584,其描述了XENOMOUSE™技术;美国专利No. 5,770,429,其描述了HUMAB®技术;美国专利No. 7,041,870,其描述了K-M MOUSE®技术,和美国专利申请公开文本No. US 2007/0061900,其描述了VELOCIMOUSE®技术)。可以例如通过与不同人恒定区组合进一步修饰来自此类动物生成的完整抗体的人可变区。

[0201] 也可以通过基于杂交瘤的方法生成抗体。已经描述了用于生成人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异骨髓瘤细胞系(见例如Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur等, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第51-63页 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 及Boerner等, *J. Immunol.*, 147:86 (1991))。经由人B细胞杂交瘤技术生成的人抗体也记载于Li等, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)。其它方法包括那些例如记载于美国专利No. 7,189,826 (其描述了自杂交瘤细胞系生成单克隆人IgM抗体) 和Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26 (4):265-268 (2006) (其描述了人-人杂交瘤) 的。人杂交瘤技术 (Trioma技术) 也记载于Vollmers和Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20 (3):927-937 (2005) 及Vollmers和Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27 (3):185-91 (2005)。

[0202] 也可以通过分离自人衍生的噬菌体展示文库选择的Fv克隆可变域序列生成抗体。然后,可以将此类可变域序列与期望的人恒定域组合。下文描述了自抗体文库选择人抗体的技术。

[0203] 5. 文库衍生的抗体

[0204] 可以通过对组合文库筛选具有期望的一种或多种活性的抗体来分离本发明的抗体。例如,用于生成噬菌体展示文库并对此类文库筛选拥有期望结合特征的抗体的多种方法是本领域中已知的。此类方法综述于例如Hoogenboom等,于 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等编, Human Press, Totowa, NJ, 2001), 并且进一步记载于例如McCafferty等, *Nature* 348:552-554; Clackson等, *Nature* 352:624-628 (1991); Marks等, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1992); Marks和Bradbury,于 *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo编, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu等, *J. Mol. Biol.* 338 (2):299-310 (2004); Lee等, *J. Mol. Biol.* 340 (5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (34):12467-12472 (2004); 及Lee等, *J. Immunol. Methods* 284 (1-2):119-132 (2004)。

[0205] 在某些噬菌体展示方法中,将VH和VL基因的全集分别通过聚合酶链式反应 (PCR) 克隆,并在噬菌体文库中随机重组,然后可以对所述噬菌体文库筛选抗原结合噬菌体,如记载于Winter等, *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994) 的。噬菌体通常以单链Fv (scFv) 片段或以Fab片段展示抗体片段。来自经免疫的来源的文库提供针对免疫原的高亲和力抗体,而不需要构建杂交瘤。或者,可以(例如自人)克隆天然全集以在没有任何免疫的情况中提供针对一大批非自身和还有自身抗原的抗体的单一来源,如由Griffiths等, *EMBO J*, 12:725-734 (1993) 描述的。最后,也可以通过自干细胞克隆未重排的V基因区段,并使用含有随机序列的PCR引物编码高度可变的CDR3区并在体外实现重排来合成生成未免疫文库,如由

Hoogenboom和Winter, J. Mol. Biol., 227:381-388 (1992) 所描述的。描述人抗体噬菌体文库的专利公开文本包括例如：美国专利No. 5,750,373, 和美国专利公开文本No. 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936和2009/0002360。

[0206] 认为自人抗体文库分离的抗体或抗体片段是本文中的人抗体或人抗体片段。

[0207] 6. 多特异性抗体

[0208] 在某些实施方案中, 本文中提供的抗体是多特异性抗体, 例如双特异性抗体。多特异性抗体是对至少两个不同位点具有结合特异性的单克隆抗体。在某些实施方案中, 结合特异性之一针对 $\alpha\beta$, 而另一种针对任何其它抗原。在某些实施方案中, 双特异性抗体可以结合 $\alpha\beta$ 的两个不同表位。也可以使用双特异性抗体来将细胞毒剂定位于细胞。双特异性抗体可以以全长抗体或抗体片段制备。

[0209] 用于生成多特异性抗体的技术包括但不限于具有不同特异性的两对免疫球蛋白重链-轻链对的重组共表达(见Milstein和Cuello, Nature 305:537 (1983)), WO 93/08829, 和Traunecker等, EMBO J. 10:3655 (1991)), 和“节-入-穴”工程化(见例如美国专利No. 5,731,168)。也可以通过用于生成抗体Fc-异二聚体分子的工程化静电操纵效应(WO 2009/089004A1); 交联两个或更多个抗体或片段(见例如美国专利No. 4,676,980, 及Brennan等, Science, 229:81 (1985)); 使用亮氨酸拉链来生成双特异性抗体(见例如Kostelny等, J. Immunol., 148 (5):1547-1553 (1992)); 使用用于生成双特异性抗体片段的“双抗体”技术(见例如Hollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)); 及使用单链Fv (sFv) 二聚体(见例如Gruber等, J. Immunol., 152:5368 (1994)); 及如例如Tutt等, J. Immunol. 147:60 (1991) 中所描述的, 制备三特异性抗体来生成多特异性抗体。

[0210] 本文中还包括具有三个或更多个功能性抗原结合位点的工程化改造抗体, 包括“章鱼抗体”(见例如US 2006/0025576A1)。

[0211] 本文中的抗体或片段还包括包含结合 $\alpha\beta$ 及另一种不同抗原的抗原结合位点的“双重作用Fab”或“DAF”(见例如US 2008/0069820)。

[0212] 7. 抗体变体

[0213] 在某些实施方案中, 涵盖本文中提供的抗体的氨基酸序列变体。例如, 可以期望改善抗体的结合亲和力和/或其它生物学特性。可以通过将合适的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中, 或者通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如对抗体的氨基酸序列内的残基的删除, 和/或插入和/或替代。可以进行删除, 插入, 和替代的任何组合以得到最终的构建体, 只要最终的构建体拥有期望的特征, 例如, 抗原结合。

[0214] 替代, 插入, 和删除变体

[0215] 在某些实施方案中, 提供了具有一处或多处氨基酸替代的抗体变体。替代诱变感兴趣的位点包括HVR和FR。保守替代在表1中在“保守的替代”的标题下显示。更实质的变化在表1中在“例示性替代”的标题下提供, 并且如下文参照氨基酸侧链类别进一步描述的。可以将氨基酸替代引入感兴趣的抗体中, 并且对产物筛选期望的活性, 例如保留/改善的抗原结合, 降低的免疫原性, 或改善的ADCC或CDC。

[0216] 表1

[0217]

初始残基	例示性替代	保守的替代
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

[0218] 依照共同的侧链特性,氨基酸可以如下分组:

[0219] (1) 疏水性的: 正亮氨酸, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0220] (2) 中性, 亲水性的: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0221] (3) 酸性的: Asp, Glu;

[0222] (4) 碱性的: His, Lys, Arg;

[0223] (5) 影响链取向的残基: Gly, Pro;

[0224] (6) 芳香族的: Trp, Tyr, Phe。

[0225] 非保守替代会需要用这些类别之一的成员替换另一个类别的。

[0226] 一类替代变体牵涉替代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。一般地,为进一步研究选择的所得变体相对于亲本抗体会具有某些生物学特性的改变(例如改善)(例如升高的亲和力,降低的免疫原性)和/或会基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。一种例示性的替代变体是亲和力成熟的抗体。在某些实施方案中,亲和力成熟的抗体会具有纳摩尔或甚至皮摩尔量级的对靶抗原的亲和力。亲和力成熟的抗体可通过本领域已知规程来生成,例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术诸如本文中所描述的那些技术。简言之,将一个或多个HVR残基突变,并将变体抗体在噬菌体上展示,并对其筛选特定的生物学活性(例如结合亲和力)。还知道其它规程。Marks et al., Bio/Technology 10: 779-783 (1992) 记载了通过VH和VL结构域改组进行的亲和力成熟。以下文献记载了HVR和/

或框架残基的随机诱变:Barbas et al.,Proc.Nat.Acad.Sci.USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al.,Gene 169:147-155 (1995);Yelton et al.,J.Immunol.155:1994-2004 (1995);Jackson et al.,J.Immunol.154 (7):3310-9 (1995);及Hawkins et al.,J.Mol.Biol.226:889-896 (1992)。

[0227] 可以对HVR做出变化(例如,替代),例如以改善抗体亲和力。可以对HVR“热点”,即由在体细胞成熟过程期间以高频率经历突变的密码子编码的残基(见例如Chowdhury, Methods Mol.Biol.207:179-196 (2008)),和/或SDR(a-CDR)做出此类变化,其中对所得的变体VH或VL测试结合亲和力。通过次级文库的构建和再选择进行的亲和力成熟已经记载于例如Hoogenboom等,于Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien等编,Human Press,Totowa,NJ, (2001))。在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如,易错PCR,链改组,或寡核苷酸指导的诱变)将多样性引入为成熟选择的可变基因。然后,创建次级文库。然后,筛选文库以鉴定具有期望的亲和力的任何抗体变体。另一种引入多样性的方法牵涉HVR指导的方法,其中将几个HVR残基(例如,一次4-6个残基)随机化。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性鉴定牵涉抗原结合的HVR残基。特别地,经常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0228] 在某些实施方案中,可以在一个或多个HVR内发生替代,插入,或删除,只要此类变化不实质性降低抗体结合抗原的能力。例如,可以对HVR做出保守变化(例如,保守替代,如本文中提供的),其不实质性降低结合亲和力。此类变化可以在HVR“热点”或SDR以外。在上文提供的变体VH和VL序列的某些实施方案中,每个HVR是未改变的,或者含有不超过1,2或3处氨基酸替代。

[0229] 一种可用于鉴定抗体中可以作为诱变靶位的残基或区域的方法称作“丙氨酸扫描诱变”,如由Cunningham和Wells (1989) Science,244:1081-1085所描述的。在此方法中,将残基或靶残基的组(例如,带电荷的残基诸如arg,asp,his,lys,和glu)鉴定,并用中性或带负电荷的氨基酸(例如,丙氨酸或多丙氨酸)替换以测定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在对初始替代表明功能敏感性的氨基酸位置引入进一步的替代。或者/另外,利用抗原-抗体复合物的晶体结构来鉴定抗体与抗原间的接触点。作为替代的候选,可以靶向或消除此类接触残基和邻近残基。可以筛选变体以确定它们是否含有期望的特性。

[0230] 氨基酸序列插入包括长度范围为1个残基至含有100或更多个残基的多肽的氨基和/或羧基端融合,及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括抗体的N或C端与酶(例如对于ADEPT)或延长抗体的血清半衰期的多肽的融合物。

[0231] 糖基化变体

[0232] 在某些实施方案中,改变本文中提供的抗体以提高或降低抗体糖基化的程度。可以通过改变氨基酸序列,使得创建或消除一个或多个糖基化位点来方便地实现对抗体的糖基化位点的添加或删除。

[0233] 在抗体包含Fc区的情况中,可以改变其附着的碳水化合物。由哺乳动物细胞生成的天然抗体通常包含分支的,双触角寡糖,其一般通过N连接附着于Fc区的CH2域的Asn297。见例如Wright等,TIBTECH 15:26-32 (1997)。寡糖可以包括各种碳水化合物,例如,甘露糖,N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc),半乳糖,和唾液酸,以及附着于双触角寡糖结构“主干”中的GlcNAc

的岩藻糖。在一些实施方案中,可以对本发明抗体中的寡糖进行修饰以创建具有某些改善的特性的抗体变体。

[0234] 在一个实施方案中,提供了抗体变体,其具有缺乏附着(直接或间接)于Fc区的岩藻糖的碳水化合物结构。例如,此类抗体中的岩藻糖量可以是1%至80%,1%至65%,5%至65%或20%至40%。通过相对于附着于Asn297的所有糖结构(例如,复合的,杂合的和甘露糖的结构)的总和,计算Asn297处糖链内岩藻糖的平均量来测定岩藻糖量,如通过MALDI-TOF质谱术测量的,例如如记载于WO 2008/077546的。Asn297指位于Fc区中的约第297位(Fc区残基的Eu编号方式)的天冬酰胺残基;然而,Asn297也可以由于抗体中的微小序列变异而位于第297位上游或下游约±3个氨基酸,即在第294位和第300位之间。此类岩藻糖基化变体可以具有改善的ADCC功能。见例如美国专利公开文本No. US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。涉及“脱岩藻糖基化的”或“岩藻糖缺乏的”抗体变体的出版物的例子包括:US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US 2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO2005/053742;WO2002/031140;Okazaki等,J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004);Yamane-Ohnuki等,Biotech. Bioeng. 87:614 (2004)。能够生成脱岩藻糖基化抗体的细胞系的例子包括蛋白质岩藻糖基化缺陷的Lec13CHO细胞(Ripka等, Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986);美国专利申请No US 2003/0157108 A1, Presta, L.;及WO 2004/056312A1, Adams等,尤其在实施例11),和敲除细胞系,诸如α-1,6-岩藻糖基转移酶基因FUT8敲除CHO细胞(见例如Yamane-Ohnuki等,Biotech. Bioeng. 87:614 (2004);Kanda, Y.等,Biotechnol. Bioeng., 94 (4):680-688 (2006);及WO2003/085107)。

[0235] 进一步提供了具有两分型寡糖的抗体变体,例如其中附着于抗体Fc区的双触角寡糖是通过GlcNAc两分的。此类抗体变体可以具有降低的岩藻糖基化和/或改善的ADCC功能。此类抗体变体的例子记载于例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet等);美国专利No. 6,602,684 (Umana等);及US 2005/0123546 (Umana等)。还提供了在附着于Fc区的寡糖中具有至少一个半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的CDC功能。此类抗体变体记载于例如WO 1997/30087 (Patel等);WO 1998/58964 (Raju, S.);及WO 1999/22764 (Raju, S.)。

[0236] Fc区变体

[0237] 在某些实施方案中,可以将一处或多处氨基酸修饰引入本文中提供的抗体的Fc区中,由此生成Fc区变体。Fc区变体可以包含在一个或多个氨基酸位置包含氨基酸修饰(例如替代)的人Fc区序列(例如,人IgG1, IgG2, IgG3或IgG4Fc区)。

[0238] 在某些实施方案中,本发明涵盖拥有一些但不是所有效应器功能的抗体变体,所述效应器功能使其成为如下应用的期望候选物,其中抗体的体内半衰期是重要的,而某些效应器功能(诸如补体和ADCC)是不必要的或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定法以确认CDC和/或ADCC活性的降低/消减。例如,可以进行Fc受体(FcR)结合测定法以确保抗体缺乏FcγR结合(因此有可能缺乏ADCC活性),但是保留FcRn结合能力。介导ADCC的主要细胞NK细胞仅表达FcλRIII,而单核细胞表达FcλRI, FcλRII和FcλRIII。在Ravetch和Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)的第464页上的表3中汇总了造血细胞上的FcR表达。评估感兴趣分子的ADCC活性的体外测定法的非限制性例子记载于美国专利No. 5,

500,362 (见例如Hellstrom,I.等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 83:7059-7063 (1986)) 和 Hellstrom,I等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 82:1499-1502 (1985);5,821,337 (见 Bruggemann,M.等,J.Exp.Med.166:1351-1361 (1987))。或者,可以采用非放射性测定方法 (见例如用于流式细胞术的ACTI™非放射性细胞毒性测定法(Cell Technology, Inc.Mountain View,CA;和CytoTox96®非放射性细胞毒性测定法(Promega,Madison, WI))。对于此类测定法有用的效应细胞包括外周血单个核细胞(PBMC)和天然杀伤(NK)细胞。或者/另外,可以在体内评估感兴趣分子的ADCC活性,例如在动物模型中,诸如披露于 Clynes等,Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 95:652-656 (1998)的。也可以实施C1q结合测定法以确认抗体不能结合C1q,并且因此缺乏CDC活性。见例如WO 2006/029879和WO 2005/100402 中的C1q和C3c结合ELISA。为了评估补体激活,可以实施CDC测定法(见例如Gazzano-Santoro等,J.Immunol.Methods 202:163 (1996);Cragg,M.S.等,Blood 101:1045-1052 (2003);及Cragg,M.S.和M.J.Glennie,Blood 103:2738-2743 (2004))。也可以使用本领域中已知的方法来实施FcRn结合和体内清除/半衰期测定(见例如Petkova,S.B.等,Int'l Immunol.18(12):1759-1769 (2006))。

[0239] 具有降低的效应器功能的抗体包括那些具有Fc区残基238,265,269,270,297,327 和329中的一个或多个的替代的(美国专利No.6,737,056)。此类Fc突变体包括在氨基酸位置265,269,270,297和327中的两处或更多处具有替代的Fc突变体,包括残基265和297替代成丙氨酸的所谓的“DANA”Fc突变体(美国专利No.7,332,581)。

[0240] 描述了具有改善的或降低的对FcR的结合的某些抗体变体(见例如美国专利No.6, 737,056;WO 2004/056312,及Shields等,J.Biol.Chem.9(2):6591-6604 (2001))。

[0241] 在某些实施方案中,抗体变体包含具有改善ADCC的一处或多处氨基酸替代,例如 Fc区的位置298,333,和/或334(残基的EU编号方式)的替代的Fc区。

[0242] 在一些实施方案中,对Fc区做出改变,其导致改变的(即,改善的或降低的)C1q结合和/或补体依赖性细胞毒性(CDC),例如,如记载于美国专利No.6,194,551,WO 99/51642, 及Idusogie等,J.Immunol.164:4178-4184 (2000)的。

[0243] 具有延长的半衰期和改善的对新生儿Fc受体(FcRn)的结合的抗体记载于US2005/ 0014934A1 (Hinton等),新生儿Fc受体(FcRn)负责将母体IgG转移至胎儿(Guyer等, J.Immunol.117:587 (1976)及Kim等,J.Immunol.24:249 (1994))。那些抗体包含其中具有改善Fc区对FcRn结合的一处或多处替代的Fc区。此类Fc变体包括那些在Fc区残基238,256, 265,272,286,303,305,307,311,312,317,340,356,360,362,376,378,380,382,413,424或 434中的一处或多处具有替代,例如,Fc区残基434的替代的(美国专利No.7,371,826)。还可见Duncan和Winter,Nature 322:738-40 (1988);美国专利No.5,648,260;美国专利No.5, 624,821;及WO 94/29351,其关注Fc区变体的其它例子。

[0244] 经半胱氨酸工程化改造的抗体变体

[0245] 在某些实施方案中,可以期望创建经半胱氨酸工程化改造的抗体,例如, “thioMAb”,其中抗体的一个或多个残基用半胱氨酸残基替代。在具体的实施方案中,替代的残基存在于抗体的可接近位点。通过用半胱氨酸替代那些残基,反应性硫醇基团由此定位于抗体的可接近位点,并且可以用于将抗体与其它模块,诸如药物模块或接头-药物模块 缀合,以创建免疫缀合物,如本文中进一步描述的。在某些实施方案中,可以用半胱氨酸替

代下列残基之任一个或多个：轻链的V205 (Kabat编号方式)；重链的A118 (EU编号方式)；和重链Fc区的S400 (EU编号方式)。可以如例如美国专利No.7,521,541所述生成经半胱氨酸工程化改造的抗体。

[0246] 抗体衍生物

[0247] 在某些实施方案中，可以进一步修饰本文中提供的抗体以含有本领域知道的且易于获得的额外非蛋白质性质模块。适合于抗体衍生化的模块包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性例子包括但不限于聚乙二醇 (PEG)，乙二醇/丙二醇共聚物，羧甲基纤维素，右旋糖苷，聚乙烯醇，聚乙烯吡咯烷酮，聚-1,3-二氧戊环，聚-1,3,6-三口恶烷，乙烯/马来酸酐共聚物，聚氨基酸 (均聚物或随机共聚物)，和右旋糖苷或聚 (n-乙烯吡咯烷酮) 聚乙二醇，丙二醇均聚物，环氧丙烷/环氧乙烷共聚物，聚氧乙烯化多元醇 (例如甘油)，聚乙烯醇及其混合物。由于其在水中的稳定性，聚乙二醇丙醛在生产中可能具有优势。聚合物可以是任何分子量，而且可以是分支的或不分支的。附着到抗体上的聚合物数目可以变化，而且如果附着了超过一个聚合物，那么它们可以是相同或不同的分子。一般而言，可根据下列考虑来确定用于衍生化的聚合物的数目和/或类型，包括但不限于抗体要改进的具体特性或功能，抗体衍生物是否将用于指定条件下的治疗等。

[0248] 在另一个实施方案中，提供了抗体和可以通过暴露于辐射选择性加热的非蛋白质性质模块的缀合物。在一个实施方案中，非蛋白质性质模块是碳纳米管 (Kam等，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605 (2005))。辐射可以是任何波长的，并且包括但不限于对普通细胞没有损害，但是将非蛋白质性质模块加热至抗体-非蛋白质性质模块附近的细胞被杀死的温度的波长。

[0249] 重组方法和组合物

[0250] 可以使用重组方法和组合物来生成抗体，例如，如记载于美国专利No.4,816,567的。在一个实施方案中，提供了编码本文中所描述的抗AB抗体的分离的核酸。此类核酸可以编码包含抗体VL的氨基酸序列和/或包含抗体VH的氨基酸序列 (例如，抗体的轻和/或重链)。在又一个实施方案中，提供了包含此类核酸的一种或多种载体 (例如，表达载体)。在又一个实施方案中，提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个此类实施方案中，宿主细胞包含 (例如，已经用下列载体转化)：(1) 包含核酸的载体，所述核酸编码包含抗体的VL的氨基酸序列和包含抗体的VH的氨基酸序列，或 (2) 第一载体和第二载体，所述第一载体包含编码包含抗体的VL的氨基酸序列的核酸，所述第二载体包含编码包含抗体的VH的氨基酸序列的核酸。在一个实施方案中，宿主细胞是真核的，例如中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞或淋巴样细胞 (例如，Y0, NS0, Sp20细胞)。在一个实施方案中，提供了生成抗AB抗体的方法，其中该方法包括在适合于表达抗体的条件下培养包含编码抗体的核酸的宿主细胞，如上文提供的，并且任选地，自宿主细胞 (或宿主细胞培养液) 回收抗体。

[0251] 对于抗AB抗体的重组生成，将编码抗体的核酸 (例如如上文所描述的) 分离，并插入一种或多种载体中，以在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可以使用常规规程将此类核酸容易地分离并测序 (例如，通过使用寡核苷酸探针来进行，所述寡核苷酸探针能够特异性结合编码抗体的重和轻链的基因)。

[0252] 适合于克隆或表达抗体编码载体的宿主细胞包括本文中所描述的原核或真核细胞。例如，可以在细菌中生成抗体，特别是在不需要糖基化和Fc效应器功能时。对于抗体片

段和多肽在细菌中的表达,见例如美国专利No.5,648,237,5,789,199和5,840,523(还可见Charlton,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ,2003),第245-254页,其描述了抗体片段在大肠杆菌(E.coli.)中的表达)。表达后,可以将抗体在可溶性级分中自细菌细胞团糊分离,并可以进一步纯化。

[0253] 在原核生物外,真核微生物诸如丝状真菌或酵母是适合于抗体编码载体的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经“人源化”,导致生成具有部分或完全人的糖基化样式的抗体的真菌和酵母菌株。见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004),及Li等,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0254] 适合于表达糖基化抗体的宿主细胞也自多细胞生物体(无脊椎动物和脊椎动物)衍生。无脊椎动物细胞的例子包括植物和昆虫细胞。已经鉴定出许多杆状病毒株,其可以与昆虫细胞一起使用,特别是用于转染草地夜蛾(Spodoptera frugiperda)细胞。

[0255] 也可以利用植物细胞培养物作为宿主。见例如美国专利No.5,959,177,6,040,498,6,420,548,7,125,978和6,417,429(其描述了用于在转基因植物中生成抗体的PLANTIBODIES™技术)。

[0256] 也可以使用脊椎动物细胞作为宿主。例如,适合于在悬浮液中生长的哺乳动物细胞系可以是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的其它例子是经SV40转化的猴肾CV1系(COS-7);人胚肾系(293或293细胞,如记载于例如Graham等,J.Gen Virol.36:59(1977)的);幼年仓鼠肾细胞(BHK);小鼠塞托利(sertoli)细胞(TM4细胞,如记载于例如Mather,Biol.Reprod.23:243-251(1980)的);猴肾细胞(CV1);非洲绿猴肾细胞(VERO-76);人宫颈癌细胞(HELA);犬肾细胞(MDCK);牛鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A);人肺细胞(W138);人肝细胞(Hep G2);小鼠乳房肿瘤(MMT 060562);TRI细胞,如记载于例如Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.383:44-68(1982)的;MRC 5细胞;和FS4细胞。其它有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞,包括DHFR⁻CHO细胞(Urlaub等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:4216(1980));和骨髓瘤细胞系诸如Y0,NS0和Sp2/0。关于适合于抗体生成的某些哺乳动物宿主细胞系的综述,见例如Yazaki和Wu,Methods in Molecular Biology,第248卷(B.K.C.Lo编,Humana Press,Totowa,NJ),第255-268页(2003)。

[0257] 测定法

[0258] 可以通过本领域中已知的多种测定法对本文中提供的抗AB抗体鉴定,筛选,或表征其物理/化学特性和/或生物学活性。

[0259] 结合测定法和其它测定法

[0260] 一方面,对本发明的抗体测试其抗原结合活性,例如通过已知的方法诸如ELISA,Western印迹,等来进行。

[0261] 另一方面,可使用竞争测定法来鉴定与本发明的抗AB抗体竞争对AB的结合的抗体。在某些实施方案中,此类竞争性抗体结合与本文中描述的克瑞珠单抗或其它抗AB抗体所结合表位相同的表位(例如线性或构象表位)。用于定位抗体所结合表位的详细例示性方法见Morris(1996)“Epitope Mapping Protocols”,Methods in Molecular Biology vol.66(Humana Press,Totowa,NJ)。

[0262] 在一种例示性竞争测定法中,在包含第一经标记抗体(其结合AB,例如克瑞珠单抗)和第二未标记抗体(其要测试与第一抗体竞争对AB的结合的能力)的溶液中温育固定化

的期望形式(例如单体,寡聚体,或原纤维)的A β 。第二抗体可存在于杂交瘤上清液中。作为对照,在包含第一经标记抗体但不包含第二未标记抗体的溶液中温育固定化A β 。在允许第一抗体结合A β 的条件下温育后,除去过量的未结合抗体,并测量与固定化A β 联合的标记物的量。如果测试样品中与固定化A β 联合的标记物的量与对照样品相比实质性降低,那么这指示第二抗体与第一抗体竞争对A β 的结合。参见Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

[0263] 活性测定法

[0264] 一方面,提供用于鉴定具有生物学活性(例如克瑞珠单抗的生物学活性)的抗A β 抗体的测定法。生物学活性可以包括但不限于例如阻止单体A β 聚集形成寡聚体A β 或将寡聚体A β 解体成单体A β 。还提供在体内和/或在体外具有此类生物学活性的抗体。

[0265] 在某些实施方案中,对本发明的抗体测试此类生物学活性。

[0266] 用于使用簇集蛋白的患者鉴定和选择的方法和组合物

[0267] 本公开文本基于如下发现,即簇集蛋白(也称作载脂蛋白J或ApoJ, GenPept登录号NP_001822)基因中的多态性与抗A β 抗体治疗(例如抗A β 抗体或其抗原结合片段)的功效有关联。如本文中的实施例中证明的,SNP rs1532278(簇集蛋白中的一处SNP)处存在T核苷酸与具有轻度至中度AD的患者及其特定亚群中的有利结局有关。因而,本公开文本提供方法和工具,包括但不限于用于鉴定和选择有可能受益于或响应包含抗A β 抗体的AD治疗的方法的工具。

[0268] 在一个方面,本公开文本提供为用抗A β 抗体治疗选择患者的方法,其中该患者罹患早期或轻度至中度AD。该方法包括在来自该患者的样品中检测簇集蛋白等位基因的存在或缺失,特别是在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的存在。该方法进一步包括选择检测到在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的患者为更加可能响应用抗A β 抗体治疗。

[0269] 在另一个方面,本公开文本提供预测罹患早期或轻度至中度AD的个体是否有可能响应包含抗A β 抗体的AD治疗的方法。在一些实施方案中,该方法包括在来自该个体的样品中测定SNP rs1532278处的核苷酸的身份,其中在SNP rs1532278处具有T核苷酸的个体具有升高的可能性响应包含抗A β 抗体的治疗。在一些实施方案中,该方法包括在来自该患者的样品中检测簇集蛋白等位基因的存在或缺失,特别是在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的存在。

[0270] 在另一个方面,本公开文本提供优化AD治疗的治疗功效的方法,其包括测定患者的基因型,其中测定为携带至少一个簇集蛋白等位基因(特别是在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的存在)的患者更加可能响应用抗A β 抗体治疗。

[0271] 在另一个方面,本公开文本提供用于测定罹患AD的患者会受益于包含抗A β 抗体的AD治疗的可能性的方法。在一个实施方案中,若该患者在簇集蛋白SNP rs1532278中携带T核苷酸,则该患者有可能受益于用包含抗A β 抗体(例如克瑞珠单抗或其抗原结合片段)的疗法治疗。

[0272] 所公开的方法提供方便,有效,和潜在划算的手段来获得在评估适宜或有效疗法中有用的数据和信息用于鉴定,选择,和/或治疗患者。在一些实施方案中,可以自患者获得

样品,并通过各种体外测定检查以测定与已经用抗AB抗体治疗的罹患AD的患者中的治疗效果有关的等位基因的存在或缺失。合适的样品在本文中有描述,见下文,而且可以来自血液,唾液,面颊拭子,身体组织或来自体液。

[0273] 生物标志物或SNP的存在可以基于本领域知道的任何合适标准来测定,包括但不限于mRNA,cDNA,蛋白质,蛋白质片段和/或基因拷贝数。

[0274] 在一些实施方案中,该簇集蛋白等位基因是rs1532278:T等位基因或其等效等位基因,或在SNP rs1532278处包含T。与rs1532278连锁不平衡的备选SNP也可用于本公开文本的方法。在一些实施方案中,该连锁不平衡为D' 测量或 r^2 测量。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的D' 测量为 1.0 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 ≥ 0.60 。在一些实施方案中选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 $\geq 0.70, 0.80$ 或 0.90 。在一些实施方案中,选定SNP和备选SNP之间的 r^2 测量为 1.0 。在一些实施方案中,该备选SNP位于该选定SNP上游或下游500,000碱基对内。

[0275] 在样品中分析SNP可以通过多种方法学在血液,组织或其它体液中分析,许多方法学是本领域知道的且熟练技术人员了解的,包括但不限于DNA测序,RNA测序,DNA的聚合酶链式反应分析,RNA的聚合酶链式反应分析,基于寡核苷酸的杂交,原位杂交,基于寡核苷酸的引物延伸,电泳和HPLC。别的用于检测SNP的技术包括但不限于下述技术:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳(DGGE),时间温度梯度电泳(TTGE),Zn(II)-轮环藤宁(cyclen)聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5' 核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray(单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),等温智能扩增(Methods in Molecular Biology, Single Nucleotide Polymorphisms, 2nd edition, editor Anton Komar, Humana Press 2009; Chapters 7-28),简单序列长度多态性的PCR扩增(SSLP),连接酶链式反应(LCR),RNA酶A切割,异源双链体DNA的化学切割,单链构象多态性(SSCP)分析(Warren et al., Current Protocol in Human Genetics, Supp 15:7.4.1-7.4.23 (2001)),珠-芯片微阵列(Lambert et al., Current Protocol in Human Genetics, Supp 78:2.9.1-2.9.3 (2013)),单链构象多态性(SSCP)分析,引物单碱基延伸(SBE) (Deshpande et al., Current Protocol in Human Genetics, Supp 34:13.4.1-13.4.11 (2005)),引物延伸测定法(Kwok et al., Current Protocol in Human Genetics, Supp 39:2.11.1-2.11.10 (2003))。SNP的存在也可以自基于蛋白质的技术(例如用于检查蛋白质表达或功能水平的)的分析推断,包括免疫测定法(例如ELISA,ELIFA,免疫组织化学和/或Western印迹分析,免疫沉淀,分子结合测定法,荧光激活细胞分选(FACS)诸如此类,基于血液的定量测定法(如例如血清ELISA),原位杂交,或功能测定法(包括生化酶活性测定法或基于细胞的系统),以及能通过基因和/或组织阵列分析来实施的极其多种测定法任一。用于评估基因和基因产物的状态的典型方案可见例如Ausubel et al. eds., 1995, Current Protocols In Molecular Biology, 单元2(Northern印迹), 4(Southern印迹), 15(免疫印迹)和18(PCR分析)。也可以

使用多路免疫测定法,诸如那些可得自Rules Based Medicine的,基于珠的免疫测定法,例如Luminex,ELISA或Meso Scale Discovery (MSD)。

[0276] 对于本发明的SNP分析而言灵敏且适用的一种技术是等位基因特异性PCR (AS-PCR),记载于例如美国专利No.6,627,402。这一技术在核酸序列的野生型变体存在下检测该序列中的突变或多态性。在一项成功的等位基因特异性PCR中,扩增靶核酸的期望变体,同时其它变体没有扩增,至少没有达到可检测的水平。

[0277] 等位基因特异性PCR的区分的一项测量是涉及两种等位基因的扩增反应中Ct值之间的差异(ΔCt)。每项扩增反应通过“生长曲线”或“扩增曲线”来表征,它在核酸扩增测定法的背景中是一函数曲线图,其中自变量是扩增循环数而因变量是在每个扩增循环时测量的扩增依赖性可测量参数,诸如由荧光团发射的荧光。典型地,该扩增依赖性可测量参数是在杂交后核酸聚合酶的核酸酶活性对探针的水解后由探针发射的荧光的量,参见Holland et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. 88:7276-7280和美国专利No.5,210,015。生长曲线通过“阈值”(或Ct值)来表征,它是预定程度的可测量参数实现时的循环数。较低的Ct值代表更快的扩增,而较高的Ct值代表更慢的扩增。在等位基因特异性反应的背景中,两种模板的Ct值之间的差异代表反应中的等位基因区分。

[0278] 在等位基因特异性PCR中,至少一种引物是等位基因特异性的,使得引物延伸只(或优先)在序列的特定变体存在时发生且在另一种变体存在时不发生(或以更低频率发生,即具有实质性 ΔCt)。典型地,引物中的区分性核苷酸(即只匹配靶序列的一种变体的核苷酸)是3'-末端核苷酸。然而,引物的3'末端只是特异性的多种决定因素之一。例如,别的错配也可能影响区分。参见2009年10月20日提交的流水号12/582,068的美国专利申请(作为US20100099110公布)。另一种办法是包括改变引物和靶序列之间碱基配对的非天然或经修饰核苷酸(美国专利No.6,001,611,通过援引完整收入本文)。降低的延伸动力学和因而引物的特异性受到许多因素影响,包括错配的总序列背景和反应中存在的其它核酸。这些外部因素对每处别的错配的影响以及单独或组合的每一个别的非天然核苷酸的影响是无法预测的。在一个实施方案中,本公开文本提供对于测定簇集蛋白中的多态性而言特异性的寡核苷酸,特别是对簇集蛋白中的rs1532278特异性的寡核苷酸。

[0279] 在一个实施方案中,用探针来检测多态性的存在。探针可以用放射性标记物或发色团(荧光团)标记物(例如掺入FAM, JA270, CY5家族染料,或HEX染料的标记物)标记的。作为使用荧光标记探针检测的一个例子,可以通过实时聚合酶链式反应(rt-PCR)来检测突变,其中探针的杂交导致探针的酶促消化和所得荧光的检测(TaqMan™探针法, Holland et al. (1991) P.N.A.S. USA 88:7276-7280)。或者,可以通过凝胶电泳继以染色或印迹和杂交来检测多态性和扩增产物的存在,如记载于例如Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001) Molecular Cloning, 3rd ed. CSHL Press, 第5和9章。

[0280] “荧光染料”或“荧光团”是附着于例如核酸的,当受到合适波长的光激发时能够发射光辐射的化合物或模块。典型的荧光染料包括罗丹明染料,花菁染料,荧光素染料和BODIPY®染料。荧光团是发荧光的发色团。“FRET”或“荧光共振能量转移”或“Foerster共振能量转移”指至少两种发色团(供体发色团和受体发色团(称作淬灭剂))之间的能量转移。典型地,当供体受到合适波长的光辐射激发时供体将能量转移至受体。当受体为“暗”淬灭剂时,它以除光以外的形式消散所转移的能量。常用的暗淬灭剂有BlackHole

QuenchersTM (BHQ), Biosearch Technologies, Inc. (Novato, Cal.); Iowa BlackTM, Integrated DNA Tech., Inc. (Coralville, Iowa); BlackBerryTM Quencher 650 (BBQ-650), Berry&Assoc. (Dexter, Mich.)。常用的供体-淬灭剂对包括FAM-BHQ对, CY5-BHQ对和HEX-BHQ对。

[0281] 包含生物标志物或SNP的样品可以通过本领域公知方法来获得。见定义部分。另外, 疗法的进展可以通过对此类身体样品测试SNP更加容易地监测。

[0282] 可以使用基因分型阵列来分析DNA或RNA以检测SNP的存在。一个此类例子是基于Illumina的阵列技术, 它是一种商品化的微阵列系统, 包含>700K基因座 (Oliphant et al., Biotechniques, Supp:56-8, 60-1 (2002)) 且是用于DNA和RNA分析的一种常用方法 (例如鉴定核酸样品中的SNP)。Illumina微阵列技术利用在两种基质 (光线束或平面二氧化硅载玻片) 任一上的微孔中自我装配的3微米二氧化硅珠。每一粒珠覆盖有无数拷贝的特定寡核苷酸, 起捕捉序列的作用。

[0283] 组织或细胞样品中选定基因或生物标志物的表达也可以通过基于功能或活性的测定法来检查。例如, 如果该生物标志物是酶, 那么可以进行本领域已知的用于测定或检测组织或细胞样品中给定酶活性的存在的测定法。

[0284] 可以在报告中提供基于测试结果的患者的SNP状态。该报告可以是任何形式的书面材料 (例如纸件或数码形式, 或在因特网上) 或口头陈述 (例如当面的 (实况) 或记录的)。该报告可以进一步向健康专业人员 (例如内科医生) 指出该患者可受益于或有可能响应抗Aβ治疗。

[0285] 本文中还提供的是用于自样品检测多态性的存在或测定患者的基因型的试剂盒。本发明的试剂盒具有多个实施方案。在某些实施方案中, 试剂盒包含容器, 所述容器上的标签, 和所述容器内装载的组合物; 其中该组合物包括结合与针对SNP的自身抗体对应的一种或多种靶多肽序列的一种或多种一抗, 该容器上的标签指示该组合物可用于评估至少一种类型的哺乳动物细胞中一种或多种靶蛋白的存在, 和关于使用该抗体评估至少一种类型的哺乳动物细胞中一种或多种靶蛋白的存在的说明书。该试剂盒可以进一步包含用于制备组织样品和将抗体和探针应用于组织样品的相同切片的一套说明书和材料。该试剂盒可以包括一抗和二抗二者, 其中该二抗缀合至标记物, 例如酶标记物。

[0286] 用于诊断和检测的方法和组合物

[0287] 在某些实施方案中, 本文中提供的任何抗Aβ抗体可用于检测生物学样品中Aβ的存在。如本文中使用的, 术语“检测”涵盖定量或定性检测。在某些实施方案中, 生物学样品包含细胞或组织, 诸如血清, 血浆, 鼻拭子, 痰, 脑脊液, 眼房水, 诸如此类, 或自生物体获得的组织或细胞样品, 诸如含有神经或脑组织的样品。

[0288] 在一个实施方案中, 提供了在诊断或检测方法中使用的抗Aβ抗体。在又一方面, 提供了在生物学样品中检测Aβ的存在的方法。在某些实施方案中, 该方法包括在容许抗Aβ抗体结合Aβ的条件下使生物学样品与抗Aβ抗体接触, 如本文中所描述的, 并检测是否在抗Aβ抗体与Aβ间形成复合物。此类方法可以是体外或体内方法。

[0289] 可以使用本发明的抗体来诊断的例示性病症是由淀粉状蛋白或淀粉状蛋白样蛋白引起的或与淀粉状蛋白或淀粉状蛋白样蛋白有关的疾病和病症。这些包括但不限于由单体, 原纤维, 或多聚体状态或三者的任意组合的淀粉状蛋白样蛋白 (包括淀粉状蛋白斑) 的

存在或活性引起的疾病和病症。例示性疾病包括但不限于诸如下述疾病的继发性淀粉样变和年龄相关淀粉样变,包括但不限于神经学病症诸如阿尔茨海默氏病(“AD”),特征在于认知记忆能力损失的疾病或状况诸如例如轻度认知损害(MCI),Lewy体痴呆,唐(Down)氏综合征,伴有淀粉样变的遗传性脑出血(荷兰型),关岛型帕金森-痴呆复合症和基于淀粉样蛋白样蛋白或与淀粉样蛋白样蛋白有关的其它疾病诸如进行性核上性麻痹,多发性硬化,克-雅(Creutzfeldt Jacob)病,帕金森(Parkinson)氏病,HIV相关痴呆,ALS(肌萎缩性侧索硬化症),包涵体肌炎(IBM),成人发作型糖尿病,内分泌肿瘤和老年性心脏淀粉样变,和 β -淀粉样蛋白沉积所致各种眼病包括黄斑变性,玻璃疣相关视神经病,青光眼,和白内障。

[0290] 在某些实施方案中,提供了经标记的抗 $A\beta$ 抗体。标记物包括但不限于直接检测的标记物或模块(诸如荧光,发色,电子致密,化学发光,和放射性标记物),及例如经由酶反应或分子相互作用间接检测的模块,诸如酶或配体。例示性的标记物包括但不限于放射性同位素 ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , 3H ,和 ^{131}I ,荧光团诸如稀土螯合物或荧光素及其衍生物,罗丹明(rhodamine)及其衍生物,丹酰,伞形酮,萤光素酶,例如,萤火虫萤光素酶和细菌萤光素酶(美国专利No.4,737,456),萤光素,2,3-二氢酞嗪二酮,辣根过氧化物酶(HRP),碱性磷酸酶, β -半乳糖苷酶,葡糖淀粉酶,溶菌酶,糖类氧化酶,例如,葡萄糖氧化酶,半乳糖氧化酶,和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶,杂环氧化酶诸如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶(其与采用过氧化氢氧化染料前体的酶诸如HRP偶联),乳过氧化物酶,或微过氧化物酶,生物素/亲合素,自旋标记物,噬菌体标记物,稳定的自由基,等等。

[0291] 本公开文本进一步提供用于检测簇集蛋白等位基因中的多态性的药剂的体外用途。在一些实施方案中,提供用于检测簇集蛋白等位基因的药剂,其用于鉴定有可能响应包含抗 $A\beta$ 抗体的治疗的具有早期,轻度,或轻度至中度AD的患者。在一些实施方案中,该药剂能够检测在SNP rs1532278中具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因的存在。

[0292] 药物配制剂

[0293] 通过混合具有期望纯度的此类抗体或分子与一种或多种任选的药学可接受载剂(Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编(1980))以冻干配制剂或水性溶液形式制备如本文中所描述的抗 $A\beta$ 抗体的药物配制剂。一般地,药学可接受载剂在所采用的剂量和浓度对接受者是无毒的,而且包括但不限于缓冲剂,诸如磷酸盐,柠檬酸盐,和其它有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(诸如氯化十八烷基二甲基苄基铵;氯化己烷双胺;苯扎氯铵,苄索氯铵;酚,丁醇或苯甲醇;对羟基苯甲酸烃基酯,诸如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯;邻苯二酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,诸如血清清蛋白,明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸,谷氨酰胺,天冬酰胺,组氨酸,精氨酸或赖氨酸;单糖,二糖和其它碳水化合物,包括葡萄糖,甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖类,诸如蔗糖,甘露醇,海藻糖或山梨醇;成盐相反离子,诸如钠;金属复合物(例如Zn-蛋白质复合物);和/或非离子表面活性剂,诸如聚乙二醇(PEG)。本文中的例示性的药学可接受载剂进一步包含间质药物分散剂诸如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白(sHASEGP),例如人可溶性PH-20透明质酸酶糖蛋白,诸如rHuPH20(HYLENEX®,Baxter International,Inc.)。某些例示性的sHASEGP和使用方法,包括rHuPH20记载于美国专利公开文本No.2005/0260186和2006/0104968。在一方面,将sHASEGP与一种或多种别的糖胺聚糖酶诸如软骨素酶组合。

[0294] 在一个实施方案中,可以在精氨酸缓冲液中配制本发明的抗体。在一个方面,该精氨酸缓冲液可以是琥珀酸精氨酸缓冲液。在一个此类方面,该琥珀酸精氨酸缓冲液的浓度可以是50mM或更高。在另一个此类方面,该琥珀酸精氨酸缓冲液的浓度可以是100mM或更高。在另一个此类方面,该琥珀酸精氨酸缓冲液的浓度可以是150mM或更高。在另一个此类方面,该琥珀酸精氨酸缓冲液的浓度可以是200mM或更高。在另一个方面,该精氨酸缓冲液配制剂可以进一步含有表面活性剂。在另一个此类方面,该表面活性剂是聚山梨酯。在另一个此类方面,该聚山梨酯是聚山梨酯20。在另一个此类方面,该配制剂中聚山梨酯20的浓度是0.1%或更低。在另一个此类方面,该配制剂中聚山梨酯20的浓度是0.05%或更低。在另一个方面,该精氨酸缓冲液配制剂的pH介于4.5和7.0之间。在另一个方面,该精氨酸缓冲液配制剂的pH介于5.0和6.5之间。在另一个方面,该精氨酸缓冲液配制剂的pH介于5.0和6.0之间。在另一个方面,该精氨酸缓冲液配制剂的pH是5.5。在任何前述实施方案和方面,本发明的抗体可以是克瑞珠单抗。

[0295] 例示性的冻干抗体配制剂记载于美国专利No.6,267,958。水性抗体配制剂包括那些记载于美国专利No.6,171,586和W02006/044908的,后一种配制剂包含组氨酸-乙酸盐缓冲液。

[0296] 本文中的配制剂还可含有超过一种所治疗具体适应症所必需的活性组分,优选那些活性互补且彼此没有不利影响的。例如,可能想要进一步提供一种或多种化合物来预防或治疗阿尔茨海默氏病的症状。合适地,此类活性组分以对于意图的目的有效的量组合存在。

[0297] 活性成分可包载于例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中(例如分别是羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊),在胶状药物投递系统中(例如脂质体,清蛋白微球体,微乳剂,纳米颗粒和纳米胶囊),或在粗滴乳状液中。此类技术披露于Remington's Pharmaceutical Sciences,第16版,Osol,A.编(1980)。

[0298] 可以制备持续释放制剂。持续释放制剂的合适的例子包括含有抗体的固体疏水性聚合物的半透性基质,该基质为成形商品形式,例如膜,或微胶囊。

[0299] 用于体内施用的配制剂一般是无菌的。无菌性可容易地实现,例如通过穿过无菌滤膜过滤。

[0300] 治疗性方法和组合物

[0301] 如本文中显示的,静脉内施用克瑞珠单抗减轻罹患AD的患者中的疾病进展。具体而言,与安慰剂相比,当用克瑞珠单抗治疗时,具有轻度至中度AD的患者,包括具有轻度AD的患者和ApoE4阳性患者,以及具有典型地在诊断有AD的患者中看到的脑淀粉状蛋白负荷的患者显示认知衰退速率降低。基于MMSE得分升高,疾病越轻度,治疗分支中的衰退减轻与安慰剂分支相比越大。这些结果通过克瑞珠单抗结合靶物的其它指示得到进一步证实,包括脑脊液中检测到的A β 水平升高和脑中淀粉状蛋白积累减轻。而且,相当高剂量的抗体-15mg/kg-没有提高在其它抗A β 抗体的试验中观察到的ARIA型不良事件的发生率。

[0302] 因此,在一个实施方案中,使用本发明的抗体来治疗AD,包括轻度至中度AD,轻度AD,和早期AD。在另一个实施方案中,使用本发明的抗体来治疗淀粉样变。在一个此类实施方案中,该淀粉样变是轻度认知损害。在另一个此类实施方案中,该淀粉样变是唐氏综合症。在另一个此类实施方案中,该淀粉样变是伴有淀粉样变的遗传性脑出血(荷兰型)。在另

一个此类实施方案中,该淀粉样变是关岛型帕金森-痴呆复合症。在另一个此类实施方案中,该淀粉样变是与玻璃疣或眼中的其它淀粉状蛋白沉积物有关的眼病。在一个方面,该眼病是黄斑变性。在另一个方面,该眼病是玻璃疣相关视神经病。在另一个方面,该眼病是青光眼。在另一个方面,该眼病是白内障。在任何前述实施方案和方面,该本发明的抗体可以是克瑞珠单抗。

[0303] 典型地,在确定本发明的抗体治疗此类患者的适合性之前首先对患者评估一种或多种淀粉样变的存在。作为一个非限制性例子,可以使用“NINCDS-ADRDA”(神经学和语言障碍和中风-阿尔茨海默氏病相关病症评估)标准在患者中诊断AD。参见McKhann et al., 1984, *Neurology* 34:939-44。要施用本发明的一种或多种抗体的潜在患者还可以测试一种或多种可能使此类患者倾向于下述任一的遗传标志物的存在或缺失:在施用本发明的抗体的过程期间(i) 此类患者经历一种或多种淀粉样变的可能性更高或更低,或(ii) 此类患者经历一种或多种不良事件或副作用的可能性更高或更低。作为一个非限制性例子,已知携带ApoE4等位基因的患者具有比缺乏该等位基因的患者实质性更高的风险发生AD (Saunders et al., *Neurology* 1993;43:1467-72;Prekumar et al., *Am.J.Pathol.*1996; 148:2083-95),而且此类患者不成比例地呈现在另一种抗Aβ抗体巴品珠单抗的临床试验中观察到的ARIA型不良事件(Sperling et al., *Alzheimer's&Dementia* 2011,7:367-385; Salloway et al., *N.Engl.J.Med.*2014,370:322-333)。

[0304] 在一些实施方案中,使用本发明的抗体来治疗患者中的轻度至中度AD。该患者可以是ApoE4阳性的或ApoE4阴性的。在一些实施方案中,使用本发明的抗体来治疗轻度AD。在一些实施方案中,使用本发明的抗体来治疗罹患轻度至中度AD或轻度AD的ApoE4阳性患者。在一些实施方案中,使用本发明的抗体来治疗罹患轻度AD的患者。

[0305] 在一些实施方案中,使用本发明的抗体来治疗具有介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分的患者。在一些实施方案中,该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。如本文中使用的,介于两个数值之间的MMSE得分包括该范围的每个终端的数值。例如,介于22和26之间的MMSE得分包括MMSE得分22和26。

[0306] 在一些实施方案中,使用本发明的抗体来治疗‘淀粉状蛋白阳性’的患者,例如具有诊断有AD的患者典型的脑淀粉状蛋白沉积物的患者或具有阳性florbetapir PET扫描的患者。在一些实施方案中,使用本发明的抗体来减轻脑淀粉状蛋白沉积物或神经斑积累(即减轻脑淀粉状蛋白负担或负荷增多)。

[0307] 而且,本发明的抗体对于在没有提高ARIA-E或ARIA-H发生率的情况下治疗轻度至中度AD是有用的。在一些实施方案中,该患者罹患轻度AD。在一些实施方案中,该患者是ApoE4阳性的。在一些实施方案中,该患者是ApoE4阳性的且罹患轻度AD。

[0308] 如本文中的实施例证明的,治疗性效果在具有更轻度形式的AD的患者中升高。因而,在一些实施方案中,使用本发明的抗体来治疗具有早期AD的患者。在某些实施方案中,要治疗的患者具有一项或多项下述特征:(a) AD所致轻度认知损害(MCI);(b) 一种或多种在没有临床可检测缺陷的情况下指示阿尔茨海默氏病的生物标志物;(c) 使用自由和提示的选择性回忆测试(FCSRT) 定量为得分27或更大的客观记忆损失;MMSE为24-30;(d) 全局临床痴呆评定(CDR) 为0.5;和(e) 阳性淀粉状蛋白PET扫描(如由合格阅读者确定的)。

[0309] 在另一个方面,本文中提供用于在罹患早期,轻度,或轻度至中度AD的患者中治疗AD的方法,其包括以有效治疗该AD的量对所述患者施用抗A β 抗体,其中该患者具有至少一个在SNP rs1532278处包含T的簇集蛋白等位基因或其等效等位基因。本文中提供用于检测或测定特定SNP的存在或缺失的方法,组合物,和工具,见下文。

[0310] 本发明的抗体以一种符合优秀的医学实践的方式配制,定剂量,和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的特定病症,所治疗的特定哺乳动物,受试者个体的临床状况,病症的起因,药剂投递部位,施用方法,施用日程表,和医学从业人员知道的其它因素。

[0311] 施用路径

[0312] 可以通过任何合适的手段来施用本发明的抗体(和任何别的治疗剂),包括胃肠外,肺内,和鼻内,及若期望用于局部治疗的话,损伤内施用。胃肠外输注包括肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。部分根据施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以通过任何合适的路径(例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射)来进行。在一个实施方案中,皮下注射抗体。在另一个实施方案中,静脉内注射抗体。在另一个实施方案中,使用注射器(例如预填充的或不是)或自动注射器施用抗体。在另一个实施方案中,吸入抗体。

[0313] 剂量给药

[0314] 为了治疗淀粉样变,本发明的抗体(当单独或与一种或多种其它别的治疗剂组合使用时)的适宜剂量会取决于要治疗的疾病的具体类型,抗体的类型,疾病的严重性和病程,之前的疗法,患者的临床史和对抗体的响应,和主治内科医生的斟酌。抗体适合于在一次或一系列的治疗中施用于患者。本文中涵盖各种剂量给药日程表,包括但不限于单次施用或在多个时间点里的多次施用,推注施用,和脉冲输注。

[0315] 根据疾病的类型和严重性,约0.3mg/kg至100mg/kg(例如15mg/kg-100mg/kg,或该范围内的任何剂量)的抗体可以作为初始候选剂量施用于患者,无论是例如通过一次或多次分开的施用或者是通过连续输注。根据上文所述因素,一种典型的日剂量可以在约15mg/kg至100mg/kg或更多的范围中。剂量可以以一个单剂或多个分剂(例如两剂15mg/kg,总剂量30mg/kg)来施用。对于几周或更长时间上的重复施用,根据状况,治疗通常会持续直至疾病症状发生期望的阻抑。抗体的一种例示性剂量会在自约10mg/kg至约50mg/kg的范围中。如此,可以对患者施用一剂或多剂约0.5mg/kg,1mg/kg,1.5mg/kg,2.0mg/kg,3mg/kg,4.0mg/kg,5mg/kg,10mg/kg,15mg/kg,20mg/kg,25mg/kg,30mg/kg,35mg/kg,40mg/kg,50mg/kg,60mg/kg,70mg/kg,80mg/kg,90mg/kg,或100mg/kg(或其任意组合)。在一些实施方案中,施用的总剂量在50mg至2500mg的范围中。可以对患者施用约50mg,约100mg,200mg,300mg,400mg,约500mg,约600mg,约700mg,约720mg,约1000mg,约1050mg,约1100mg,约1200mg,约1300mg,约1400mg,约1500mg,约1600mg,约1700mg,约1800mg,约1900mg,约2000mg,约2050mg,约2100mg,约2200mg,约2300mg,约2400mg,或约2500mg(或其任意组合)的一种例示性剂量。此类剂量可间歇施用,例如每周,每两周,每三周,每四周,每月,每两月,每三月,或每六月。在一些实施方案中,患者接受1至35剂(例如约18剂)抗体。然而,其它剂量方案可能是有用的。此疗法的进展可以通过常规技术和测定法来监测。

[0316] 在某些实施方案中,以15mg/kg,30mg/kg,40mg/kg,45mg/kg,50mg/kg,60mg/kg的剂量或例如300mg,500mg,700mg,800mg,或更高的平坦剂量(flat dose)施用本发明的抗体。在一些实施方案中,一段时间每2周或每4周通过静脉内注射施用剂量。在一些实施方案

中,一段时间每2周或每4周通过皮下注射施用剂量。在某些实施方案中,该段时间是6个月,1年,18个月,2年,5年,10年,15年,20年,或患者终身。

[0317] 监测/评估对治疗性处理的响应

[0318] 如在本公开文本的方法中使用的,抗体或其抗原结合片段对患者提供治疗性效果或好处。在某些实施方案中,该治疗性好处是AD进展延迟或受到抑制或临床,功能,或认知衰退减轻。在一些实施方案中,治疗性效果或好处表现为“患者响应”或“响应”(及其语法变化)。患者响应可以使用任何指示对患者的好处的终点来评估,包括但不限于:(1)一定程度地抑制疾病进展,包括减缓和完全阻滞;(2)减少斑的量或减少脑淀粉状蛋白积累;(3)改善一项或多项评估度量,包括但不限于ADAS-Cog,iADL,和CDR-SOB量表;(4)改善患者的日常机能;(5)提高脑脊液中一种或多种生物标志物(例如A β)的浓度;和(6)降低一种或多种指示AD存在的生物标志物。患者响应的评估还可以包括评估可能发生的可能与治疗有关联的任何不良事件。

[0319] 在一个实施方案中,在本发明抗体疗程之前,期间,和/或之后评估患者的认知能力和日常机能。已经开发了多种认知和功能评估工具用于评估,诊断,和评判心理功能,认知,和神经学缺陷。这些工具包括但不限于ADAS-Cog,包括12项ADAS-Cog (ADAS-Cog12),13项ADAS-Cog (ADAS-Cog13),14项ADAS-Cog (ADAS-Cog14);CDR-SOB,包括CDR判断和解决问题和CDR记忆要件;日常生活的器械活动(iADL);和MMSE。

[0320] “ADAS-Cog”指阿尔茨海默氏病评估量表认知子量表,是一份多部分认知评估。参见Rosen et al.,1984,Amer.J.Psych.141:1356-1364;Mohs et al.,1997,Alzheimer's Disease Assoc.Disorders 11(2):S13-S21。ADAS-Cog上的数值得分越高,测试患者的缺陷或损害相对于另一具有更低得分的个体越大。ADAS-Cog可用作一种用于评估AD治疗是否在治疗上有效的测量。ADAS-Cog得分的升高指示患者的状况恶化,而ADAS-Cog得分的降低表示患者的状况改善。如本文中使用的,“ADAS-Cog性能的衰退”或“ADAS-Cog得分的升高”指示患者的状况恶化且可反映AD进展。ADAS-Cog是检查员实施的套组,其评估多个认知领域,包括记忆,理解,实践,定向,和自发言语(Rosen et al.1984,Am J Psychiatr 141:1356-64;Mohs et al.1997,Alzheimer Dis Assoc Disord 11(S2):S13-S21)。ADAS-Cog是AD治疗试验的一个标准主要终点(Mani,2004,Stat Med 23:305-14)。ADAS-Cog12是一种70点型式的ADAS-Cog加评估学习单词列表回忆的10点延迟单词回忆项目。其它ADAS-Cog量表包括该ADAS-Cog13和ADAS-Cog14。

[0321] 在一些实施方案中,本文中提供的治疗方法提供通过ADAS-Cog得分测量的认知衰退相对于安慰剂减轻至少约30%,至少约35%,至少约40%,或至少约45%。

[0322] “MMSE”指迷你心理状态检查,其提供介于1和30之间的得分。参见Folstein et al.,1975,J.Psychiatr.Res.12:189-98。26和更低的得分一般认为指示缺陷。MMSE的数值得分越低,测试患者的缺陷或损坏相对于另一具有更低得分的个体越大。MMSE得分的升高可指示患者的状况改善,而MMSE得分的降低可表示患者的状况恶化。

[0323] “CDR-SOB”指临床痴呆评定量表/分项之和。参见Hughes et al,1982。CDR评估6项要件:记忆,定向,判断/解决问题,社区事务,家和爱好,和个人护理。测试施用于患者和护理者二者,而且每一个要件(或每一个“分项”)在0至3的量表上打分。一个完整的CDR-SOB得分基于所有6个分项间得分之和。同样可以为每一个分项或要件个别获得子得分,例如CDR/

记忆或CDR/判断和解决问题。如本文中使用的,“CDR-SOB性能的衰退”或“CDR-SOB得分升高”指示患者的状况恶化且可反映AD进展。在一些实施方案中,本文中提供的治疗方法提供相对于安慰剂CDR-SOB性能的衰退减轻至少约30%,至少约35%,或至少约40%。

[0324] “iADL”指日常生活的器械活动量表。参见Lawton,M.P.,and Brody,E.M.,1969, *Gerontologist* 9:179-186。这一量表测量实施典型的日常活动诸如家务,洗衣,打电话,购物,做饭,等的能力。得分越低,个体在进行日常生活的活动方面受损越多。在一些实施方案中,本文中提供的治疗方法提供相对于安慰剂iADL量表上的衰退减轻至少约10%,至少约15%,或至少约20%。

[0325] 可以使用神经学成像技术和工具,例如使用PET(正电子发射断层扫描)扫描来测定脑淀粉状蛋白负荷或负担。随时间(例如在施行治疗之前和之后,或在贯穿治疗方案过程的一个或多个间隔时)采集的患者的连续PET扫描能允许检测脑中增多的,减少的,或未变的淀粉状蛋白负担。这种技术还可以用于测定淀粉状蛋白积累是否增加或减少。在一些实施方案中,使用florbetapir ¹⁸F来实施脑中淀粉状蛋白沉积物的检测。在一些实施方案中,若基于扫描的集中视觉读数确立存在中度至频繁的神经斑,则认为florbetapir PET扫描是阳性的。

[0326] 共施用

[0327] 抗体无需但任选与一种或多种目前用于预防或治疗所讨论病症或其一种或多种症状的药剂一起配制。此类其它药剂的有效量取决于配制剂中存在的抗体的量,病症或治疗的类型,及上文所述其它因素。这些通常以本文所述相同的剂量和施用途径使用,或以约1-99%的本文所述剂量使用,或以凭经验/临床上确定为适宜的任何剂量和任何途径使用。本领域普通技术人员会理解,本发明的抗体可以与任何前述化合物同时共施用,或者可以在施用任何前述化合物之前或之后施用。

[0328] 在用本发明的抗体治疗淀粉样变时,可以共施用神经学药物。此类神经学药物可以选自下组:包括但不限于特异性结合选自 β 分泌酶,tau,早老素,淀粉状蛋白前体蛋白或其部分,淀粉状蛋白 β 肽或其寡聚体或原纤维,死亡受体6(DR6),晚期糖化终产物受体(RAGE),帕金森蛋白(parkin),和亨廷顿蛋白(huntingtin)的靶物的抗体或其它结合分子(包括但不限于小分子,肽,适体,或其它蛋白质结合物);胆碱酯酶抑制剂(即加兰他敏,多奈哌齐,利伐斯的明和他克林);NMDA受体拮抗剂(即美金刚),单胺耗竭剂(即丁苯那嗪);甲磺酸二氢麦角碱;抗胆碱能抗帕金森病药剂(即丙环定,苯海拉明,三己芬迪,苯扎托品,比哌立登和苯海索);多巴胺能抗帕金森病药剂(即恩他卡朋,司来吉兰,普拉克索,溴隐亭,罗替戈汀,司来吉兰,罗匹尼罗,雷沙吉兰,阿扑吗啡,卡比多巴,左旋多巴,培高利特,托卡朋和金刚烷胺);丁苯那嗪;消炎药(包括但不限于非类固醇消炎药(即吲哚美辛和上文所列其它化合物);激素(即雌激素,孕酮和亮丙瑞林);维生素(即叶酸和烟酰胺);二甲弗林;高牛磺酸(即3-氨基丙磺酸;3APS);血清素受体活性调控剂(即扎利罗登);干扰素,和糖皮质激素或皮质类固醇。在一些实施方案中,共施用一种或多种除克瑞珠单抗以外的抗A β 抗体。此类抗A β 抗体的非限制性例子包括索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。术语“皮质类固醇”包括但不限于氟替卡松(包括丙酸氟替卡松(FP)),倍氯米松,布地奈德,环索奈德,莫米松,氟尼缩松,倍他米松和曲安西龙。“可吸入皮质类固醇”表示适合通过吸入来投递的皮质类固醇。例示性的可吸入皮质类固醇是氟替卡松,二丙酸倍氯米松,布地奈德,

糠酸莫米松,环索奈德,氟尼缩松,和曲安奈德。

[0329] 在用本发明的抗体治疗作为眼科疾病或病症的淀粉样变时,可以选择如下的神经学药物,它是抗血管发生性眼科药剂(即贝伐珠单抗,兰尼单抗和哌加他尼),眼科青光眼药剂(即卡巴胆碱,肾上腺素,地美溴铵,阿可乐定,溴莫尼定,布林唑胺,左布诺洛尔,噻吗洛尔,倍他洛尔,多佐胺,比马前列素,卡替洛尔,美替洛尔,地匹福林,曲伏前列素和拉坦前列素),碳酸酐酶抑制剂(即醋甲唑胺和乙酰唑胺),眼科抗组胺剂(即萘甲唑啉,苯肾上腺素和四氢唑啉(tetrahydrozoline)),眼科润滑剂,眼科类固醇(即氟米龙,泼尼松龙,氯替泼诺,地塞米松,二氟泼尼酯,利美索龙,氟轻松,甲羟松和曲安西龙),眼科麻醉剂(即利多卡因,丙美卡因和丁卡因),眼科抗感染剂(即左氧氟沙星,加替沙星,环丙沙星,莫西沙星,氯霉素,杆菌肽/多粘菌素b,磺胺醋酰,妥布霉素,阿奇霉素,贝西沙星,诺氟沙星,磺胺异恶唑,庆大霉素,碘苷,红霉素,那他霉素,短杆菌肽,新霉素,氧氟沙星,曲氟尿苷,更昔洛韦,阿糖腺苷),眼科抗炎剂(即奈帕芬胺,酮咯酸,氟比洛芬,舒洛芬,环孢素,曲安西龙,双氯芬酸和溴芬酸),和眼科抗组胺剂或减充血剂(即酮替芬,奥洛他定,依匹斯汀,萘甲唑林,色甘酸钠,四氢唑啉(tetrahydrozoline),吡嘞司特,贝他斯汀,萘甲唑林,苯肾上腺素,奈多罗米,洛度沙胺,苯肾上腺素,依美斯汀和氮卓斯汀)。应当理解,可以使用本发明的免疫缀合物代替或补充抗A β 抗体来实施任何上述配制剂或治疗性方法。

[0330] 制品

[0331] 在本发明的另一方面,提供了一种制品,其含有可用于治疗,预防和/或诊断上文描述的病症的材料。制品包含容器和容器上或与容器联合的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶,管形瓶,注射器,IV溶液袋,等。容器可以由多种材料诸如玻璃或塑料形成。容器容纳单独或与另一种组合物组合有效治疗,预防和/或诊断状况的组合物,并且可以具有无菌存取口(例如,容器可以是具有由皮下注射针可刺穿的塞子的管形瓶或静脉内溶液袋)。组合物中的至少一种活性剂是本发明的抗体。标签或包装插页指示使用组合物来治疗选择的状况。此外,制品可以包含(a)其中装有组合物的第一容器,其中组合物包含本发明的抗体;和(b)其中装有组合物的第二容器,其中组合物包含别的细胞毒性或其它方面治疗性的药剂。本发明的此实施方案中的制品可以进一步包含包装插页,其指示可以使用组合物来治疗特定的状况。或者/另外,制品可以进一步包含第二(或第三)容器,其包含药学可接受缓冲液,诸如抑菌性注射用水(BWFI),磷酸盐缓冲盐水,Ringer氏溶液和右旋糖溶液。它可以进一步包含从商业和用户观点看期望的其它材料,包括其它缓冲剂,稀释剂,滤器,针,和注射器。

[0332] 应当理解,任何上述制品可包括本发明的免疫缀合物来代替或补充抗A β 抗体。

[0333] 例示性实施方案

[0334] 本文中提供的是例示性实施方案,用于示例。

[0335] 1.一种减轻诊断有早期或轻度至中度阿尔茨海默氏病(AD)的患者中的功能或认知能力衰退的方法,其包括以有效减缓罹患早期或轻度至中度AD的患者中的功能或认知能力衰退的量对该患者施用在淀粉状蛋白 β (1-42)(SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合的人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(A β)抗体。

[0336] 2.实施方案1的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

[0337] 3.实施方案1的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

- [0338] 4.实施方案2或3的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:
- [0339] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;
- [0340] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;
- [0341] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;
- [0342] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;
- [0343] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且
- [0344] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。
- [0345] 5.实施方案4的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。
- [0346] 6.实施方案5的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。
- [0347] 7.前述实施方案任一项的方法,其中通过使用12项阿尔茨海默氏病评估量表-认知(ADAS-Cog12),13项阿尔茨海默氏病评估量表-认知(ADAS-Cog13),或14项阿尔茨海默氏病评估量表-认知(ADAS-Cog14)测试测定该患者在施用所述抗体之前和之后的得分来评估认知能力衰退,任选其中通过ADAS-Cog测量的认知衰退减轻相对于安慰剂是至少30%,至少35%,至少40%,或至少45%。
- [0348] 8.实施方案7的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。
- [0349] 9.实施方案7的方法,其中该患者罹患轻度AD。
- [0350] 10.实施方案7的方法,其中该患者罹患早期AD。
- [0351] 11.实施方案1至8任一项的方法,其中该患者在开始治疗之前具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。
- [0352] 12.实施方案11的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。
- [0353] 13.前述实施方案任一项的方法,其中以10mg/kg至100mg/kg患者体重的剂量施用该抗体。
- [0354] 14.实施方案13的方法,其中以至少15mg/kg的剂量施用该抗体。
- [0355] 15.实施方案14的方法,其中以15mg/kg,30mg/kg,45mg/kg,50mg/kg,或60mg/kg的剂量施用该抗体。
- [0356] 16.实施方案13或14的方法,其中经静脉内注射施用该抗体。
- [0357] 17.实施方案13至16任一项的方法,其中每2周,每4周,每个月,每2个月,或每6个月施用该抗体。
- [0358] 18.一种在没有提高不良事件风险的情况下治疗早期或轻度至中度AD的方法,其包括以在没有提高治疗突发不良事件风险的情况下有效治疗该AD的量对诊断有早期或轻度至中度AD的患者施用在淀粉状蛋白 β (1-42)(SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合的人源化单克隆抗 β 抗体,其中该不良事件选自:(i)淀粉状蛋白相关成像异常—水肿(ARIA-E)和(ii)淀粉状蛋白相关成像异常—出血(ARIA-H)。
- [0359] 19.实施方案18的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。
- [0360] 20.实施方案18的方法,其中该抗体是IgG4抗体。
- [0361] 21.实施方案19的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:
- [0362] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

- [0363] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;
- [0364] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;
- [0365] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;
- [0366] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且
- [0367] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。
- [0368] 22.实施方案21的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。
- [0369] 23.实施方案22的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。
- [0370] 24.实施方案18至23任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。
- [0371] 25.实施方案18至23任一项的方法,其中该不良事件是ARIA-E。
- [0372] 26.实施方案25的方法,其中,若检测到治疗突发ARIA-E,则中断施用该抗体,任选施用针对ARIA-E的治疗。
- [0373] 27.实施方案26的方法,其进一步包括解决了该ARIA-E之后恢复施用所述抗体,其中以比中断施用之前要更低的剂量施用该抗体。
- [0374] 28.实施方案18的方法,其中若在用所述抗体治疗期间在该患者中检测到一例或多例新的ARIA-E,则不再施用抗体,且任选对该患者施用皮质类固醇。
- [0375] 29.实施方案28的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。
- [0376] 30.一种减轻诊断有早期或轻度至中度阿尔茨海默氏病(AD)的患者中的功能或认知能力衰退的方法,其包括以有效减缓罹患早期或轻度至中度AD的ApoE4阳性患者中的功能或认知能力衰退的量对该患者施用在淀粉状蛋白 β (1-42)(SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合的人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(A β)抗体。
- [0377] 31.实施方案30的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。
- [0378] 32.实施方案30的方法,其中该抗体是IgG4抗体。
- [0379] 33.实施方案31或32的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:
- [0380] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;
- [0381] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;
- [0382] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;
- [0383] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;
- [0384] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且
- [0385] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。
- [0386] 34.实施方案33的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。
- [0387] 35.实施方案34的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。
- [0388] 36.实施方案30至35任一项的方法,其中通过使用ADAS-Cog12,ADAS-Cog13,或ADAS-Cog14测试测定该患者在施用所述抗体之前和之后的得分来评估认知能力衰退,任选其中通过ADAS-Cog测量的认知衰退减轻相对于安慰剂是至少30%,至少35%,至少40%,或至少45%。
- [0389] 37.实施方案36的方法,其中该患者具有轻度AD。
- [0390] 38.实施方案36的方法,其中该患者具有早期AD。

[0391] 39. 实施方案30至37任一项的方法, 其中该患者在开始治疗之前具有至少20, 介于20和30之间, 介于20和26之间, 介于24和30之间, 介于21和26之间, 介于22和26之间, 介于22和28之间, 介于23和26之间, 介于24和26之间, 或介于25和26之间的MMSE得分。

[0392] 40. 实施方案39的方法, 其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

[0393] 41. 实施方案30至39任一项的方法, 其中以10mg/kg至100mg/kg患者体重的剂量施用该抗体。

[0394] 42. 实施方案41的方法, 其中以至少15mg/kg的剂量施用该抗体。

[0395] 43. 实施方案42的方法, 其中以15mg/kg, 30mg/kg, 45mg/kg, 50mg/kg, 或60mg/kg的剂量施用该抗体。

[0396] 44. 实施方案41或42的方法, 其中经静脉内注射施用该抗体。

[0397] 45. 实施方案41至44任一项的方法, 其中每2周, 每4周, 每个月, 每2个月, 或每6个月施用该抗体。

[0398] 46. 一种在没有提高不良事件风险的情况下治疗早期或轻度至中度AD的方法, 其包括以在没有提高治疗突发不良事件风险的情况下有效治疗该AD的量对诊断有早期或轻度至中度AD的ApoE4阳性患者施用在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1) 的残基13和24内结合的人源化单克隆抗A β 抗体, 其中该不良事件选自: (i) 淀粉状蛋白相关成像异常—水肿 (ARIA-E) 和 (ii) 淀粉状蛋白相关成像异常—出血 (ARIA-H)。

[0399] 47. 实施方案46的方法, 其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

[0400] 48. 实施方案46的方法, 其中该抗体是IgG4抗体。

[0401] 49. 实施方案47的方法, 其中该抗体包含六个高变区 (HVR), 其中:

[0402] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

[0403] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

[0404] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

[0405] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

[0406] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7; 且

[0407] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

[0408] 50. 实施方案49的方法, 其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

[0409] 51. 实施方案50的方法, 其中该抗体是克瑞珠单抗。

[0410] 52. 实施方案46至51任一项的方法, 其中该不良事件是ARIA-E。

[0411] 53. 实施方案52的方法, 其中若检测到治疗突发ARIA-E, 则中断施用该抗体, 且任选施用针对ARIA-E的治疗。

[0412] 54. 实施方案53的方法, 其进一步包括在解决了该ARIA-E之后恢复施用所述抗体, 任选包括恢复以比中断施用之前要更低的剂量施用所述抗体。

[0413] 55. 实施方案46的方法, 其中若在用所述抗体治疗期间在该患者中检测到一例或多例新的ARIA-E, 则不再施用抗体, 且任选对该患者施用皮质类固醇。

[0414] 56. 前述实施方案任一项的方法, 其中用一种或多种选自下组的药剂并行治疗该患者: 特异性结合靶物的治疗剂; 胆碱酯酶抑制剂; NMDA受体拮抗剂; 单胺耗竭剂; 甲磺酸二氢麦角碱; 抗胆碱能抗帕金森病药剂; 多巴胺能抗帕金森病药剂; 丁苯那嗪; 抗炎剂; 激素;

维生素;二甲弗林(dimebolin);高牛磺酸;血清素受体活性调控剂;干扰素;和糖皮质激素;除克瑞珠单抗以外的抗A β 抗体;抗生素;抗病毒药剂。

[0415] 57.实施方案56的方法,其中该药剂是胆碱酯酶抑制剂。

[0416] 58.实施方案57的方法,其中该胆碱酯酶抑制剂选自下组:加兰他敏,多奈哌齐,利伐斯的明和他克林。

[0417] 59.实施方案56的方法,其中该药剂是NMDA受体拮抗剂。

[0418] 60.实施方案59的方法,其中该NMDA受体拮抗剂是美金刚或其盐。

[0419] 61.实施方案56的方法,其中该药剂是特异性结合靶物的治疗剂且该靶物选自下组: β 分泌酶,tau,早老素,淀粉状蛋白前体蛋白或其部分,淀粉状蛋白 β 肽或其寡聚体或原纤维,死亡受体6(DR6),晚期糖化终产物受体(RAGE),帕金森蛋白(parkin),和亨廷顿蛋白(huntingtin)。

[0420] 62.实施方案56的方法,其中该药剂是单胺耗竭剂,任选丁苯那嗪。

[0421] 63.实施方案56的方法,其中该药剂是选自下组的抗胆碱能抗帕金森病药剂:丙环定,苯海拉明,三己芬迪,苯扎托品,比哌立登和苯海索。

[0422] 64.实施方案56的方法,其中该药剂是选自下组的多巴胺能抗帕金森病药剂:恩他卡朋,司来吉兰,普拉克索,溴隐亭,罗替戈汀,司来吉兰,罗匹尼罗,雷沙吉兰,阿扑吗啡,卡比多巴,左旋多巴,培高利特,托卡朋和金刚烷胺。

[0423] 65.实施方案56的方法,其中该药剂是选自下组的抗炎剂:非类固醇消炎药和吲哚美辛。

[0424] 66.实施方案56的方法,其中该药剂是选自下组的激素:雌激素,孕酮和亮丙瑞林。

[0425] 67.实施方案56的方法,其中该药剂是选自下组的维生素:叶酸和烟酰胺。

[0426] 68.实施方案56的方法,其中该药剂是高牛磺酸,它是3-氨基丙磺酸或3APS。

[0427] 69.实施方案56的方法,其中该药剂是扎利罗登。

[0428] 70.一种减缓诊断有早期或轻度至中度阿尔茨海默氏病(AD)的患者中的临床衰退的方法,其包括以有效减缓罹患早期或轻度至中度AD的患者中的该衰退的量对该患者施用 在淀粉状蛋白 β (1-42)(SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合的人源化单克隆抗淀粉状蛋白 贝塔(A β)抗体。

[0429] 71.实施方案70的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

[0430] 72.实施方案70的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

[0431] 73.实施方案71或72的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:

[0432] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

[0433] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

[0434] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

[0435] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

[0436] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

[0437] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

[0438] 74.实施方案73的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

[0439] 75.实施方案74的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。

[0440] 76. 实施方案70至75任一项的方法, 其进一步包括通过使用12项阿尔茨海默氏病评估量表-认知 (ADAS-Cog12), 13项阿尔茨海默氏病评估量表-认知 (ADAS-Cog13), 或14项阿尔茨海默氏病评估量表-认知 (ADAS-Cog14) 测试测定该患者在施用所述抗体之前和之后的得分来评估认知能力衰退, 任选其中通过ADAS-Cog测量的认知衰退减轻相对于安慰剂是至少30%, 至少35%, 至少40%, 或至少45%。

[0441] 77. 实施方案76的方法, 其中该患者是ApoE4阳性的。

[0442] 78. 实施方案76的方法, 其中该患者罹患轻度AD。

[0443] 79. 实施方案76的方法, 其中该患者罹患早期AD。

[0444] 80. 实施方案70至78任一项的方法, 其中该患者在开始治疗之前具有至少20, 介于20和30之间, 介于20和26之间, 介于24和30之间, 介于21和26之间, 介于22和26之间, 介于22和28之间, 介于23和26之间, 介于24和26之间, 或介于25和26之间的MMSE得分。

[0445] 81. 实施方案80的方法, 其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

[0446] 82. 实施方案70至80任一项的方法, 其中以10mg/kg至100mg/kg患者体重的剂量施用该抗体。

[0447] 83. 实施方案82的方法, 其中以至少15mg/kg的剂量施用该抗体。

[0448] 84. 实施方案83的方法, 其中以15mg/kg, 30mg/kg, 45mg/kg, 50mg/kg, 或60mg/kg的剂量施用该抗体。

[0449] 85. 实施方案82或83的方法, 其中经静脉内注射施用该抗体。

[0450] 86. 实施方案82至85任一项的方法, 其中每2周, 每4周, 每个月, 每2个月, 或每6个月施用该抗体。

[0451] 87. 一种治疗受试者中的早期或轻度AD的方法, 其包括以有效治疗该AD的量对罹患早期或轻度AD的患者施用在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1) 的残基13和24内结合的人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔 (A β) 抗体。

[0452] 88. 实施方案87的方法, 其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

[0453] 89. 实施方案87的方法, 其中该抗体是IgG4抗体。

[0454] 90. 实施方案88或89的方法, 其中该抗体包含六个高变区 (HVR), 其中:

[0455] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

[0456] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

[0457] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

[0458] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

[0459] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7; 且

[0460] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

[0461] 91. 实施方案90的方法, 其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

[0462] 92. 实施方案91的方法, 其中该抗体是克瑞珠单抗。

[0463] 93. 实施方案87至92任一项的方法, 其中该量有效减轻认知能力衰退, 它是通过使用12项阿尔茨海默氏病评估量表-认知 (ADAS-Cog12), 13项阿尔茨海默氏病评估量表-认知 (ADAS-Cog13), 或14项阿尔茨海默氏病评估量表-认知 (ADAS-Cog14) 测试测定该患者在施用所述抗体之前和之后的得分来评估的, 任选其中通过ADAS-Cog测量的认知衰退减轻相对

于安慰剂是至少30%，至少35%，至少40%，或至少45%。

[0464] 94.实施方案93的方法，其中该患者是ApoE4阳性的。

[0465] 95.实施方案87至94任一项的方法，其中该患者在开始治疗之前具有至少20，介于20和30之间，介于20和26之间，介于24和30之间，介于21和26之间，介于22和26之间，介于22和28之间，介于23和26之间，介于24和26之间，或介于25和26之间的MMSE得分。

[0466] 96.实施方案95的方法，其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

[0467] 97.实施方案87至95任一项的方法，其中以10mg/kg至100mg/kg患者体重的剂量施用该抗体。

[0468] 98.实施方案97的方法，其中以至少15mg/kg的剂量施用该抗体。

[0469] 99.实施方案98的方法，其中以15mg/kg, 30mg/kg, 45mg/kg, 50mg/kg, 或60mg/kg的剂量施用该抗体。

[0470] 100.实施方案97或98的方法，其中经静脉内注射施用该抗体。

[0471] 101.实施方案97至100任一项的方法，其中每2周，每4周，每个月，每2个月，或每6个月施用该抗体。

[0472] 102.实施方案70至101任一项的方法，其中用一种或多种选自下组的药剂并行治疗该患者：特异性结合靶物的治疗剂；胆碱酯酶抑制剂；NMDA受体拮抗剂；单胺耗竭剂；甲磺酸二氢麦角碱；抗胆碱能抗帕金森病药剂；多巴胺能抗帕金森病药剂；丁苯那嗪；抗炎剂；激素；维生素；二甲弗林(dimebolin)；高牛磺酸；血清素受体活性调控剂；干扰素；和糖皮质激素；抗Aβ抗体；抗生素；抗病毒药剂。

[0473] 103.实施方案102的方法，其中该药剂是胆碱酯酶抑制剂。

[0474] 104.实施方案103的方法，其中该胆碱酯酶抑制剂选自下组：加兰他敏，多奈哌齐，利伐斯的明和他克林。

[0475] 105.实施方案102的方法，其中该药剂是NMDA受体拮抗剂。

[0476] 106.实施方案105的方法，其中该NMDA受体拮抗剂是美金刚或其盐。

[0477] 107.实施方案102的方法，其中该药剂是特异性结合靶物的治疗剂且该靶物选自下组：β分泌酶，tau，早老素，淀粉状蛋白前体蛋白或其部分，淀粉状蛋白β肽或其寡聚体或原纤维，死亡受体6(DR6)，晚期糖化终产物受体(RAGE)，帕金森蛋白(parkin)，和亨廷顿蛋白(huntingtin)。

[0478] 108.实施方案102的方法，其中该药剂是单胺耗竭剂，任选丁苯那嗪。

[0479] 109.实施方案102的方法，其中该药剂是选自下组的抗胆碱能抗帕金森病药剂：丙环定，苯海拉明，三己芬迪，苯扎托品，比哌立登和苯海索。

[0480] 110.实施方案102的方法，其中该药剂是选自下组的多巴胺能抗帕金森病药剂：恩他卡朋，司来吉兰，普拉克索，溴隐亭，罗替戈汀，司来吉兰，罗匹尼罗，雷沙吉兰，阿扑吗啡，卡比多巴，左旋多巴，培高利特，托卡朋和金刚烷胺。

[0481] 111.实施方案102的方法，其中该药剂是选自下组的抗炎剂：非类固醇消炎药和吲哚美辛。

[0482] 112.实施方案102的方法，其中该药剂是选自下组的激素：雌激素，孕酮和亮丙瑞林。

[0483] 113.实施方案102的方法，其中该药剂是选自下组的维生素：叶酸和烟酰胺。

- [0484] 114.实施方案102的方法,其中该药剂是高牛磺酸,它是3-氨基丙磺酸或3APS。
- [0485] 115.实施方案102的方法,其中该药剂是扎利罗登。
- [0486] 116.实施方案102的方法,其中该药剂是除克瑞珠单抗以外的抗A β 抗体。
- [0487] 117.一种治疗罹患早期或轻度至中度AD的患者中的阿尔茨海默氏病(AD)的方法,其包括以有效治疗该AD的量对罹患早期或轻度至中度AD的患者施用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(A β)抗体,其中该患者具有至少一个在单核苷酸多态性(SNP) rs1532278处包含T的簇集蛋白等位基因。
- [0488] 118.实施方案117的方法,其中该簇集蛋白等位基因是其等效等位基因。
- [0489] 119.实施方案117的方法,其包括在来自该患者的样品中检测多态性,其中所检测的多态性与SNP rs1532278连锁不平衡。
- [0490] 120.实施方案119的方法,其中该样品是血液样品,唾液,面颊拭子,组织样品,或体液样品。
- [0491] 121.实施方案117至120任一项的方法,其中通过聚合酶链式反应来检测多态性。
- [0492] 122.实施方案117至120任一项的方法,其中通过测序来检测多态性。
- [0493] 123.实施方案121或122的方法,其中通过选自下组的技术来检测多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳(DGGE),时间温度梯度电泳(TTGE),Zn(II)-轮环藤宁(cyclen)聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5'核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray(单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。
- [0494] 124.实施方案117至120任一项的方法,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测多态性。
- [0495] 125.实施方案117的方法,其中该患者罹患轻度AD。
- [0496] 126.实施方案117的方法,其中该患者罹患早期AD。
- [0497] 127.实施方案125或126的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。
- [0498] 128.实施方案127的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。
- [0499] 129.实施方案117至128任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。
- [0500] 130.实施方案117的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42)(SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。
- [0501] 131.实施方案130的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。
- [0502] 132.实施方案131的方法,其中该抗体是IgG4抗体。
- [0503] 133.实施方案131或132的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:
- [0504] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

- [0505] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;
- [0506] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;
- [0507] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;
- [0508] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且
- [0509] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。
- [0510] 134.实施方案133的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。
- [0511] 135.实施方案133的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。
- [0512] 136.实施方案117的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。
- [0513] 137.一种为用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔(A β)抗体治疗选择罹患早期或轻度至中度AD的患者的方法,其包括:
- [0514] (a)在来自该患者的样品中检测在单核苷酸多态性(SNP) rs1532278处具有T的簇集蛋白等位基因的存在或缺失,并
- [0515] (b)当该样品中存在单核苷酸多态性(SNP) rs1532278处的T时选择该患者为更加可能响应用人源化单克隆抗A β 抗体治疗。
- [0516] 138.实施方案137的方法,其中该簇集蛋白等位基因是其等效等位基因。
- [0517] 139.实施方案138的方法,其中该等效等位基因与SNP rs1532278连锁不平衡。
- [0518] 140.实施方案137或138的方法,其中该样品是血液样品,唾液,面颊拭子,组织样品,或体液样品。
- [0519] 141.实施方案137至140任一项的方法,其中通过聚合酶链式反应来检测多态性。
- [0520] 142.实施方案137至140任一项的方法,其中通过测序来检测多态性。
- [0521] 143.实施方案141或142的方法,其中通过选自下组的技术来检测多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳(DGGE),时间温度梯度电泳(TTGE),Zn(II)-轮环藤宁(cyclen)聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5'核酸酶反应,Taqman测定法,MassArray(单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。
- [0522] 144.实施方案137至140任一项的方法,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测多态性。
- [0523] 145.实施方案137的方法,其中该患者罹患轻度AD。
- [0524] 146.实施方案137的方法,其中该患者罹患早期AD。
- [0525] 147.实施方案138的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。
- [0526] 148.实施方案147的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

- [0527] 149. 实施方案137至147任一项的方法, 其中该患者是ApoE4阳性的。
- [0528] 150. 实施方案137的方法, 其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1) 的残基13和24内结合。
- [0529] 151. 实施方案150的方法, 其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。
- [0530] 152. 实施方案151的方法, 其中该抗体是IgG4抗体。
- [0531] 153. 实施方案150或151的方法, 其中该抗体包含六个高变区 (HVR), 其中:
- [0532] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;
- [0533] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;
- [0534] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;
- [0535] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;
- [0536] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7; 且
- [0537] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。
- [0538] 154. 实施方案153的方法, 其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。
- [0539] 155. 实施方案153的方法, 其中该抗体是克瑞珠单抗。
- [0540] 156. 实施方案137的方法, 其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组: 索拉珠单抗, 巴品珠单抗, 阿达克单抗和刚奈鲁单抗。
- [0541] 157. 一种鉴定罹患早期或轻度至中度AD的患者为更加可能响应用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔 (A β) 抗体治疗的方法, 其包括在来自该患者的样品中检测包含如下多态性的簇集蛋白等位基因的存在, 该多态性预测对用人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔 (A β) 抗体治疗的响应。
- [0542] 158. 实施方案157的方法, 其中该多态性是单核苷酸多态性 (SNP) rs1532278处的T。
- [0543] 159. 实施方案157的方法, 其中该簇集蛋白等位基因是包含SNP rs1532278的等位基因的等效等位基因。
- [0544] 160. 实施方案159的方法, 其中该等效等位基因与SNP rs1532278连锁不平衡。
161. 实施方案157或158的方法, 其中该样品是血液样品, 唾液, 面颊拭子, 组织样品, 或体液样品。
- [0545] 162. 实施方案157至161任一项的方法, 其中通过聚合酶链式反应来检测该多态性。
- [0546] 163. 实施方案157至161任一项的方法, 其中通过测序来检测该多态性。
- [0547] 164. 实施方案162或163的方法, 其中通过选自下组的技术来检测多态性: 扫描探针和纳米孔DNA测序, 焦磷酸测序, 变性梯度凝胶电泳 (DGGE), 时间温度梯度电泳 (TTGE), Zn (II)-轮环藤宁 (cyclen) 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析, 磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳, 高通量SNP基因分型平台, 分子信标, 5' 核酸酶反应, Taqman测定法, MassArray (单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术), 三苯甲基质量标签, 基因分型平台 (诸如侵入者 (Invader) 测定法®), 单碱基引物延伸 (SBE) 测定法, PCR扩增 (例如磁性纳米颗粒 (MNP) 上的PCR扩增, PCR产物限制酶分析 (RFLP

法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。

[0548] 165.实施方案157至161任一项的方法,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测多态性。

[0549] 166.实施方案157的方法,其中该患者罹患轻度AD。

[0550] 167.实施方案157的方法,其中该患者罹患早期AD。

[0551] 168.实施方案166的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

[0552] 169.实施方案168的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

[0553] 170.实施方案157至168任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

[0554] 171.实施方案157的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。

[0555] 172.实施方案171的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

[0556] 173.实施方案172的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

[0557] 174.实施方案172或173的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:

[0558] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

[0559] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

[0560] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

[0561] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

[0562] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

[0563] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

[0564] 175.实施方案174的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

[0565] 176.实施方案175的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。

[0566] 177.实施方案157的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗和刚奈鲁单抗。

[0567] 178.一种预测罹患AD的个体是否有可能响应包含抗A β 抗体或其抗原结合片段的治疗的方法,其包括:

[0568] (a) 在来自该个体的样品中测定SNP rs1532278处的核苷酸的身份,并

[0569] (b) 当该样品含有至少一个在SNP rs1532278处具有T核苷酸的等位基因时,预测响应包含抗A β 抗体或其抗原结合片段的治疗的可能性升高。

[0570] 179.实施方案178的方法,其中该患者罹患轻度AD。

[0571] 180.实施方案178的方法,其中该患者罹患早期AD。

[0572] 181.实施方案178的方法,其中该患者具有范围为自20至26,自21至26,自22至26,自23至26,自24至26,或自25至26的MMSE。

[0573] 182.实施方案178至181任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

[0574] 183.实施方案178的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42)

(SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。

[0575] 184.实施方案183的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

[0576] 185.实施方案184的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

[0577] 186.实施方案184或185的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:

[0578] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

[0579] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

[0580] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

[0581] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

[0582] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

[0583] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

[0584] 187.实施方案186的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

[0585] 188.实施方案187的方法,其中该抗体是克瑞珠单抗。

[0586] 189.实施方案178的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组:索拉珠单抗,巴品珠单抗,阿达克单抗,和刚奈鲁单抗。

[0587] 190.一种为AD治疗优化治疗功效的方法,其包括:测定患者的基因型,其中测定为携带至少一个在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因的患者更加可能响应用抗A β 抗体或其抗原结合片段治疗。

[0588] 191.实施方案190的方法,其中该患者罹患早期或轻度AD。

[0589] 192.实施方案190的方法,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

[0590] 193.实施方案192的方法,其中该患者具有介于22和26之间的MMSE得分。

[0591] 194.实施方案190至192任一项的方法,其中该患者是ApoE4阳性的。

[0592] 195.实施方案190的方法,其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。

[0593] 196.实施方案195的方法,其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。

[0594] 197.实施方案196的方法,其中该抗体是IgG4抗体。

[0595] 198.实施方案196或197的方法,其中该抗体包含六个高变区(HVR),其中:

[0596] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;

[0597] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;

[0598] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;

[0599] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;

[0600] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7;且

[0601] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。

[0602] 199.实施方案198的方法,其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。

- [0603] 200. 实施方案199的方法, 其中该抗体是克瑞珠单抗。
- [0604] 201. 实施方案190的方法, 其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组: 索拉珠单抗, 巴品珠单抗, 阿达克单抗和刚奈鲁单抗。
- [0605] 202. 一种用于测定罹患AD的患者会受益于包含抗A β 抗体或其抗原结合片段的治疗的可能性的方法, 该方法包括: 测定该患者的基因型, 其中具有至少一个在SNP rs1532278处具有T核苷酸的簇集蛋白等位基因的患者比不具有在SNP rs1532278处具有T核苷酸的等位基因的患者更加可能响应用抗A β 抗体治疗。
- [0606] 203. 实施方案202的方法, 其中该患者罹患早期或轻度AD。
- [0607] 204. 实施方案202的方法, 其中该患者具有至少20, 介于20和30之间, 介于20和26之间, 介于24和30之间, 介于21和26之间, 介于22和26之间, 介于22和28之间, 介于23和26之间, 介于24和26之间, 或介于25和26之间的MMSE得分。
- [0608] 205. 实施方案202至204任一项的方法, 其中该患者是ApoE4阳性的。
- [0609] 206. 实施方案202的方法, 其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体在淀粉状蛋白 β (1-42) (SEQ ID NO:1)的残基13和24内结合。
- [0610] 207. 实施方案206的方法, 其中该抗体能够结合寡聚体和单体形式的淀粉状蛋白 β 。
- [0611] 208. 实施方案207的方法, 其中该抗体是IgG4抗体。
- [0612] 209. 实施方案207或208的方法, 其中该抗体包含六个高变区 (HVR), 其中:
- [0613] (i) HVR-H1是SEQ ID NO:2;
- [0614] (ii) HVR-H2是SEQ ID NO:3;
- [0615] (iii) HVR-H3是SEQ ID NO:4;
- [0616] (iv) HVR-L1是SEQ ID NO:6;
- [0617] (v) HVR-L2是SEQ ID NO:7; 且
- [0618] (vi) HVR-L3是SEQ ID NO:8。
- [0619] 210. 实施方案209的方法, 其中该抗体包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:5的重链和具有氨基酸序列SEQ ID NO:9的轻链。
- [0620] 211. 实施方案210的方法, 其中该抗体是克瑞珠单抗。
- [0621] 212. 实施方案202的方法, 其中该抗淀粉状蛋白贝塔抗体选自下组: 索拉珠单抗, 巴品珠单抗, 阿达克单抗和刚奈鲁单抗。
- [0622] 213. 实施方案190至212任一项的方法, 其中该簇集蛋白等位基因是包含SNP rs1532278的等位基因的等效等位基因。
- [0623] 214. 实施方案213的方法, 其中该等效等位基因与SNP rs1532278连锁不平衡。
- [0624] 215. 实施方案213或214的方法, 其中该样品是血液样品, 唾液, 面颊拭子, 组织样品, 或体液样品。
- [0625] 216. 实施方案213至215任一项的方法, 其中通过聚合酶链式反应来检测多态性。
- [0626] 217. 实施方案213至215任一项的方法, 其中通过测序来检测多态性。
- [0627] 218. 实施方案216或217的方法, 其中通过选自下组的技术来检测多态性: 扫描探针和纳米孔DNA测序, 焦磷酸测序, 变性梯度凝胶电泳 (DGGE), 时间温度梯度电泳 (TTGE), Zn (II)-轮环藤宁 (cyclen) 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,

磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5' 核酸酶反应, Taqman测定法,MassArray (单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。

[0628] 219.实施方案213至215任一项的方法,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测多态性。

[0629] 220.一种用于在生物学样品中测定至少一处多态性的存在的试剂盒,其包含用于检测簇集蛋白中至少一处多态性的存在的试剂和说明书,其中该多态性是包含SNP rs1532278的等位基因或等效等位基因。

[0630] 221.实施方案220的试剂盒,其中该试剂盒用于检测SNP rs1532278处T的存在。

[0631] 222.实施方案220的试剂盒,其中该试剂包含一套对于检测簇集蛋白中的多态性特异性的寡核苷酸。

[0632] 223.特异性结合簇集蛋白中的多态性的药剂制造用于选择有可能受益于抗AB抗体疗法的患者的诊断剂的用途,其中该多态性是在SNP rs1532278处包含T的等位基因。

[0633] 224.实施方案223的用途,其中通过选自下组的技术来检测至少一处多态性:扫描探针和纳米孔DNA测序,焦磷酸测序,变性梯度凝胶电泳(DGGE),时间温度梯度电泳(TTGE), Zn(II)-轮环藤宁(cyclen)聚丙烯酰胺凝胶电泳,基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析,磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳,高通量SNP基因分型平台,分子信标,5' 核酸酶反应, Taqman测定法,MassArray (单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术),三苯甲基质量标签,基因分型平台(诸如侵入者(Invader)测定法®),单碱基引物延伸(SBE)测定法,PCR扩增(例如磁性纳米颗粒(MNP)上的PCR扩增,PCR产物限制酶分析(RFLP法),等位基因特异性PCR,多重引物延伸(MPEX),和等温智能扩增。

[0634] 225.实施方案223的用途,其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区,与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测至少一处多态性。

[0635] 226.实施方案223的用途,其中SNP rs1532278处T的存在指示罹患早期或轻度AD的患者受益于抗AB抗体疗法的可能性升高。

[0636] 227.结合至少一处如下多态性的药剂用于鉴定有可能响应包含抗AB抗体或其抗原结合片段的疗法的具有早期或轻度至中度AD的患者的体外用途,其中该多态性是簇集蛋白等位基因,其中所述多态性的存在将该患者鉴定为更加可能响应该疗法。

[0637] 228.实施方案227的用途,其中该簇集蛋白等位基因是包含SNP rs1532278的等位基因或其等效等位基因。

[0638] 229.实施方案228的用途,其中该患者具有轻度AD。

[0639] 230.实施方案228的用途,其中该患者具有早期AD。

[0640] 231.实施方案228的用途,其中该患者具有至少20,介于20和30之间,介于20和26之间,介于24和30之间,介于21和26之间,介于22和26之间,介于22和28之间,介于23和26之间,介于24和26之间,或介于25和26之间的MMSE得分。

[0641] 232. 实施方案228的用途, 其中通过选自下组的技术来检测至少一处多态性: 扫描探针和纳米孔DNA测序, 焦磷酸测序, 变性梯度凝胶电泳 (DGGE), 时间温度梯度电泳 (TTGE), Zn (II)-轮环藤宁 (cyclen) 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 基于同质荧光PCR的单核苷酸多态性分析, 磷酸盐-亲和聚丙烯酰胺凝胶电泳, 高通量SNP基因分型平台, 分子信标, 5' 核酸酶反应, Taqman测定法, MassArray (单碱基引物延伸偶联基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱术), 三苯甲基质量标签, 基因分型平台 (诸如侵入者 (Invader) 测定法®), 单碱基引物延伸 (SBE) 测定法, PCR扩增 (例如磁性纳米颗粒 (MNP) 上的PCR扩增, PCR产物限制酶分析 (RFLP法), 等位基因特异性PCR, 多重引物延伸 (MPEX), 和等温智能扩增。

[0642] 233. 实施方案228的用途, 其中通过扩增含有至少一处多态性的靶区, 与在严格条件下与至少一处多态性杂交的至少一种序列特异性寡核苷酸杂交并检测该杂交来检测至少一处多态性。

实施例

[0643] 实施例1--克瑞珠单抗 (一种人源化抗Aβ单克隆抗体) 在轻度至中度阿尔茨海默氏病治疗中的临床研究

[0644] 研究设计及目标

[0645] 使用安慰剂对照进行了一项随机化, 双盲II期试验以评估人源化单克隆抗淀粉状蛋白贝塔 (“Aβ”) 抗体克瑞珠单抗在诊断有轻度至中度阿尔茨海默氏病 (AD) 的患者中的影响。该研究中包括的患者在筛选时年龄介于50和80之间, 且根据下述NINCDS-ADRDA标准具有大概AD的诊断: 迷你心理状态检查 (MMSE) 得分为18至26点, 老年抑郁量表 (GDS-15) 得分小于6, 完成6年教育 (或与智力迟钝或其他广泛性发展障碍的排除一致的优秀工作经历)。另外, 对于那些接受并行AD治疗 (诸如乙酰胆碱酯酶抑制剂或美金刚) 的患者, 确认患者已经服药达至少3个月且在随机化之前处于稳定剂量达至少2个月。至少50%的所登记的患者是ApoE4阳性的 (携带至少一个ApoE4等位基因)。还容许并行接受一种或多种非排除的处方或非处方医药 (诸如非抗胆碱能抗抑郁药, 非典型抗精神病药, 非苯并二氮杂卓抗焦虑剂, 催眠剂, 中枢作用的抗胆碱能抗组胺药, 和中枢作用的抗胆碱能抗痉挛药) 的患者登记, 前提是所施用的剂量在随机化之前恒定达至少1个月且在研究的持续时间保持相同。

[0646] 若存在以下情况, 则将个体自试验排除: 他们罹患严重或不稳定的医学状况, 其在调查人员或发起人的意见中会干扰患者完成研究评价的能力或会需要机构或医院护理的等同护理; 历史上或现在有潜在影响脑的临床上明显的血管疾病; 历史上或现在有严重的, 临床上显著的中枢神经系统创伤 (诸如永久性神经缺陷或结构性脑损害); 在筛选前4周已经住院; 他们先前已经用克瑞珠单抗或任何其它靶向Aβ的药剂治疗; 或若他们在生物疗法中的治疗剂的5个半衰期或在筛选之前3个月的较长者内接受用任何生物疗法 (除常规疫苗接种以外) 治疗。

[0647] 该研究具有三个时期--持续长达35天的筛选期, 持续68周的治疗期 (在本文中称为第1周, 第2周, 等, 直至第69周), 和再持续16周的安全性随访期 (在本文中称为第70周, 等, 直至第85周)。治疗 (或安慰剂) 经静脉内输注来施用。

[0648] 在试验中登记患者, 并以2:1 (治疗分支: 安慰剂分支) 随机化来随机化入两个分支之一, 治疗 (即克瑞珠单抗) 分支和安慰剂分支。在试验中登记了249名MMSE得分为18至26

(归类为轻度至中度AD)的患者,其中165名接受治疗而84名接受安慰剂。治疗分支中的121名患者和安慰剂分支中的61名患者具有介于20和26之间的MMSE得分(归类为轻度AD)。在治疗分支内,117名(或70.9%)是ApoE4阳性的。在安慰剂分支中,60名患者(或71.4%)是ApoE4阳性的。见图4A-B(列出患者配置)。

[0649] 实施了一项43天的安全性插入评价以测定15mg/kg静脉内剂量对10mg/kg静脉内剂量的安全性和耐受性并选择15mg/kg的剂量。该试验的两个分支中的患者每4周接受盲性静脉内注射达68周;基于安全性插入的结果,治疗分支中的患者接受15mg/kg,而安慰剂分支中的患者接受安慰剂的静脉内注射。见图5(方案示意图)。

[0650] 72周之后对患者评价:(a)第25周,第49周,和第73周时ADAS-Cog12得分和CDR-SOB得分自试验开始时的基线得分的变化,以评估对疾病进展的抑制和(b)克瑞珠单抗与安慰剂相比的安全性和耐受性。为了估计任何测量到的变化的统计显著性,计算共变异分析,置信区间,和自基线的均值变化的差异的最小平方估值。

[0651] 通过测量贯穿试验的治疗突发不良事件的频率和严重性来评价克瑞珠单抗的安全性和耐受性,尤其是症状性或无症状性ARIA-E(包括脑血管原性水肿),症状性或无症状性ARIA-H(包括脑微出血),和脑大量出血的情形。通过液体衰减反转恢复磁共振成像(FLAIR MRI)来评价在筛选期期间(在开始给药之前)或在治疗期期间(开始用安慰剂或克瑞珠单抗给药之后)脑血管原性水肿情况的存在和/或数目。见例如Sperling et al., 2011, *Alzheimer's & Dementia* 7:367-385。通过横向磁化松弛时间及额外非均匀退相梯度回波磁共振成像(T2*-加权GRE MRI)来评价在筛选期期间(在开始给药之前)或在治疗期期间(开始用安慰剂或克瑞珠单抗给药之后)脑微出血的存在和/或数目。

[0652] 结果

[0653] 73周时的ADAS-Cog12测量证实接受克瑞珠单抗的患者显示比接受安慰剂的患者较小的疾病进展。如图6A-B中所示表和图7-8中所示图中汇总的,ADAS-Cog12得分的变化对于具有轻度AD的患者在治疗分支中比在安慰剂分支中小约24% ($p=0.12$),且对于患有轻度至中度AD的患者在治疗分支中比在安慰剂分支中小约16% ($p=0.19$)。在治疗分支对安慰剂分支中的ApoE4阳性患者中也看到这一效果:ADAS-Cog12得分的增加(其中ADAS-Cog12得分的增加指示疾病进展)在接受克瑞珠单抗的患者中相对于接受安慰剂的患者小24.4% ($p=0.08$,未针对多重性调整)。见图6A和图9。ApoE4阳性患者包括具有轻度和中度AD二者的患者。当合并轻度和ApoE4阳性患者二者的结果时该效果甚至更加明显:在治疗分支中相对于安慰剂分支看到32.4% ($p=0.05$,未针对多重性调整)的降低。见图6A和图10。该治疗效果随登记时MMSE得分的增加而增加。如图6B中所示,MMSE得分越高,在治疗分支中相对于安慰剂分支ADAS-Cog12的百分比减少超大,其范围为MMSE介于18和26之间的患者的约16%至MMSE介于25和26之间的患者的高达49%降低。亦见图11。对于MMSE得分介于22和26之间的患者,在治疗分支中与安慰剂分支相比ADAS-Cog12的百分比减少为约35%。

[0654] CDR-SOB的变化显示类似的治疗效果趋势。如图12A中所示,对于MMSE为22-26的患者,在治疗分支对安慰剂中看到CDR-SOB得分变化的19%减少,而且在MMSE得分为25-26的患者中这一效果甚至更加显著,其中百分比减少为约63% (亦见图13)。图12B显示对于MMSE为22-26的患者,在查看记忆或判断和解决问题要件得分时,百分比减少分别为约42%和30%。

[0655] 该研究进一步证实克瑞珠单抗当以15mg/kg给药时没有提高ARIA型事件的发生率。在该研究中在接受克瑞珠单抗的患者中观察到单一的无症状性ARIA-E事件。ARIA-H事件的数目在治疗分支和安慰剂分支之间达成平衡。

[0656] 这些数据证实当在罹患轻度至中度AD的患者,特别是具有轻度AD和/或为ApoE4阳性的患者中以15mg/kg的剂量施用,克瑞珠单抗抑制疾病进展,而没有提高治疗突发不良事件(诸如ARIA-E或ARIA-H)的发生率。

[0657] 实施例2—克瑞珠单抗(一种人源化抗A β 单克隆抗体)在治疗轻度至中度阿尔茨海默氏病中和评估对淀粉状蛋白载荷的影响的临床研究

[0658] 研究设计和目标

[0659] 使用安慰剂对照进行了一项随机化,双盲II期试验以评估人源化单克隆抗淀粉状蛋白A β (“A β ”) 抗体克瑞珠单抗在诊断有轻度至中度阿尔茨海默氏病(AD)的患者中的影响。该研究中包括的患者在筛选时年龄介于50和80之间,且根据下述NINCDS-ADRDA标准具有大概AD的诊断:迷你心理状态检查(MMSE)得分为18至26点,老年抑郁量表(GDS-15)得分小于6,完成6年教育(或与智力迟钝或其他广泛性发展障碍的排除一致的优秀工作经历)。仅登记在筛选时具有阳性florbetapir PET (“淀粉状蛋白阳性”) 扫描的患者,这指示诊断有AD的患者的预期范围中的脑淀粉状蛋白载荷增加,如通过florbetapir-PET扫描评估的。另外,至少50%的所登记的患者是ApoE4阳性的。

[0660] 在试验中登记患者,并以2:1(治疗分支:安慰剂分支)随机化来随机化入两个分支之一,治疗(即克瑞珠单抗)分支和安慰剂分支。该试验的两个分支中的52名患者皆每4周接受盲性静脉内注射达73周。在治疗分支中,患者接受15mg/kg剂量的克瑞珠单抗。将患者根据下述各项分层:ApoE4状态(携带者对非携带者)和MMSE得分。

[0661] 收集下述各项变化的数据:ADAS-Cog12,淀粉状蛋白负荷(如使用florbetapir-PET测量的),和脑脊液(CSF)中的A β 水平。在筛选,12个月,和18个月拜访时使用florbetapir 10mCi获取Florbetapir PET扫描,其中50分钟吸收期和30分钟发射扫描。将来自6X5分钟框(或没有动态性能的扫描仪上的1X15分钟框)的图像针对标准空间进行标准化,其中使用模板自数个感兴趣区域(ROI)提取均值信号。使用基线T1-加权MRI扫描来精修模板ROI的容积。使用小脑皮层或皮层下白质作为参照区进行分析。在筛选时和在第18个月给药前收集CSF。测量CSF A β , tau和p-tau (181)。使用重复测量的混合模型或ANCOVA来进行研究终点时的治疗差异的统计分析。

[0662] 患者特征,不良事件,和PET扫描,MRI扫描,和CSF取样的时机显示于图14A-B。

[0663] 结果

[0664] 治疗期结束时的ADAS-Cog12测量证明接受克瑞珠单抗的患者比接受安慰剂的患者显示较小的疾病进展。在初始MMSE得分介于20和26之间的患者中观察到认知减退的54.3%减小($p=0.2$)。与此观察到的疾病进展减缓一致,在用克瑞珠单抗治疗的患者中较之接受安慰剂的患者还通过PET分析(用皮层下白质参照区)还观察到淀粉状蛋白沉积物累积降低。见图15A。而且,在治疗分支中检测到A β 的脑脊液浓度升高,与克瑞珠单抗所致靶物啮合一致。见图15B。在每2周用300mg皮下施用克瑞珠单抗治疗的患者中较之接受安慰剂的患者检测到A β 的脑脊液浓度的类似升高。

[0665] 这些数据证明克瑞珠单抗啮合其靶物淀粉状蛋白,且在罹患轻度至中度AD的患者

中,特别是在具有轻度AD的患者中(包括在具有典型地在诊断有AD的患者中看到的脑淀粉状蛋白负荷的患者中)以15mg/kg的剂量施用抑制疾病进展。

[0666] 实施例3--在克瑞珠单抗(一种人源化抗A β 单克隆抗体)的临床研究中与在轻度至中度阿尔茨海默氏病的治疗中的治疗响应有关的单核苷酸多态性的研究

[0667] 研究设计和目标

[0668] 使用安慰剂对照进行了一项随机化,双盲II期试验以评估人源化单克隆抗淀粉状蛋白A β (“A β ”)抗体克瑞珠单抗在诊断有轻度至中度阿尔茨海默氏病(AD)的患者中的影响。该研究中包括的患者在筛选时年龄介于50和80之间,且根据下述NINCDS-ADRDA标准具有大概AD的诊断:迷你心理状态检查(MMSE)得分为18至26点,老年抑郁量表(GDS-15)得分小于6,完成6年教育(或与智力迟钝或其他广泛性发展障碍的排除一致的优秀工作经历)。另外,对于那些接受并行AD治疗(诸如乙酰胆碱酯酶抑制剂或美金刚)的患者,确认患者已经服药达至少3个月且在随机化之前处于稳定剂量达至少2个月。至少50%的所登记的患者是ApoE4阳性的(携带至少一个ApoE4等位基因)。还容许并行接受一种或多种非排除的处方或非处方医药(诸如非抗胆碱能抗抑郁药,非典型抗精神病药,非苯并二氮杂卓抗焦虑剂,催眠剂,中枢作用的抗胆碱能抗组胺药,和中枢作用的抗胆碱能抗痉挛药)的患者登记,前提是所施用的剂量在随机化之前恒定达至少1个月且在研究的持续时间保持相同。

[0669] 该研究具有三个时期--持续长达35天的筛选期,持续68周的治疗期(在本文中称为第1周,第2周,等,直至第69周),和再持续16周的安全性随访期(在本文中称为第70周,等,直至第85周)。治疗(或安慰剂)经静脉内输注来施用。

[0670] 在试验中登记患者,并以2:1(治疗分支:安慰剂分支)随机化来随机化入两个分支之一,治疗(即克瑞珠单抗)分支和安慰剂分支。在试验中登记了249名MMSE得分为18至26(归类为轻度至中度AD)的患者,其中165名接受治疗而84名接受安慰剂。治疗分支中的121名患者和安慰剂分支中的61名患者具有介于20和26之间的MMSE得分(归类为轻度AD)。在治疗分支内,117名(或70.9%)是ApoE4阳性的。在安慰剂分支中,60名患者(或71.4%)是ApoE4阳性的。见图4A-B(列出患者配置)。

[0671] 该试验的两个分支中的患者每4周接受盲性静脉内注射达68周;治疗分支中的患者接受15mg/kg,而安慰剂分支中的患者接受安慰剂的静脉内注射。

[0672] 72周之后对患者评价:(a)第25周,第49周,和第73周时ADAS-Cog12得分自试验开始时的基线得分的变化,以评估对疾病进展的抑制,与安慰剂比较。为了估计任何测量到的变化的统计显著性,计算共变异分析,置信区间,和自基线的均值变化的差异的最小平方估值。

[0673] 在试验中登记的在基线和第73周时具有合格的ADAS-Cog12测量的224名个体中,156名个体提供关于遗传相关研究的知情同意书。55名个体在安慰剂分支中且101名在治疗分支中。自这些个体收集DNA样品,并进行基因分型和质量控制测试。基因分型使用Illumina HumanOmni 2.5-8BeadChip(http://support.illumina.com/array/array_kits/humanomni2_5-8_beadchip_kit.ilmn)依照标准方案来实施。

[0674] 分析基因型数据以如下控制基因分型错误和质量。保留具有 $\geq 50\%$ 基因分型率的单核苷酸多态性(SNP)进行进一步分析。将未达到下文所述测定法质量控制标准的SNP从考虑中移除,就像不能代表25%至75%的具有SNP结果的研究群体的子群。出于质量控制目

的,排除具有>10%总体缺失数据的样品。自进一步分析排除具有>5%缺失数据的个别变体。对剩余变体测试隐藏相关性(经由IBD估算)(Laurie et al.,2010,Genet Epidemiology34(6):591-602)和样品污染(经由变体的代表性子集中的过量杂合性测试),如记载于Turner et al.,2011,Curr Protoc Hum Genet Chapter 1:Unit 1.19。

[0675] 实施21种预定遗传变体的探索性分析以确定是否存在与抗淀粉状蛋白贝塔(“A β ”)抗体疗法有关的潜在增强的治疗益处的证据。该变体是自在AD全基因组筛选中报告的(参见Lambert et al.,2013)或与多种疾病有关的候选基因座选择的。如果变体在Illumina HumanOmni 2.5-8BeadChip上没有分型,那么通过在500kb距离内寻找高度相关变体来鉴定代理变体(使用 r^2 计算成对连锁不平衡)。用于计算与预定的21种变体具有 $r^2 \geq 0.80$ 的代理变体的参照数据包括1000个Genomes Pilot 1,HapMap3(release 2)。2种感兴趣的预定变体不具有达到 r^2 标准的代理且逐出进一步分析。保留19种预定或代理变体进行关联分析。

[0676] 为了测试所选变体和治疗好处之间的关联的存在,使用继承的两种遗传模型来评估治疗分支中较之安慰剂分支中第73周时ADAS-Cog12的均值变化。在第一种模型中,使用一种线性回归模型在治疗分支中较之安慰剂分支中的所有个体在由风险等位基因纯合和杂合携带者组成的组之间比较ADAS-Cog12随时间的均值变化(如记载于Lynch et al.,GENETICS AND ANALYSIS OF QUANTITATIVE TRAITS(Sunderland,MA,Sinauer,1998))。在第二种模型中,使用同一种线性回归模型在治疗分支中较之安慰剂中的所有个体在由保护性等位基因纯合和杂合携带者组成的组之间比较ADAS-Cog12随时间的均值变化。对于这两种遗传模型,指派ADAS-Cog12随时间的变化作为感兴趣结局且指派组状态作为预测变量。使用t-统计量和双侧p值来评估组状态作为预测变量的显著性。

[0677] 使用SASTMversion 9.2对保护性等位基因携带者群体以及非携带者群体实施混合模型重复测量(MMRM)分析以分析ADAS-Cog12的纵向数据。使用非结构性方差-协方差矩阵,这些模型对于结局测量的基线值,MMSE阶层(<22对>22),ApoE4状态,MMSE阶层与ApoE4状态相互作用,拜访,治疗 and 拜访与治疗相互作用具有固定效应。

[0678] 结果

[0679] 对总共19种先前与发生AD的风险有关的变体测试对克瑞珠单抗治疗的响应的预测效果。基于治疗分支和安慰剂分支之间第73周时ADAS-Cog12中的估算治疗 Δ ,鉴定出对于风险等位基因或保护性等位基因任一与治疗效果的关联具有0.06或更小的p值的数个SNP。所鉴定的SNP之一是来自簇集蛋白(CLU,也称作ApoJ)基因的rs1532278,其中,作为保护性等位基因的携带者,T具有潜在增强的治疗效果。基于MMRM分析,第73周时ADAS-Cog12中的估算治疗 Δ 在SNP阳性群体(具有至少一个保护性等位基因的个体)中为3.45,较之SNP阴性群体(不具有保护性等位基因的个体)中的-0.78。这些代表克瑞珠单抗分支相对于安慰剂分支的百分比减少对于SNP阳性患者为35.9%,较之SNP阴性患者的-7.4%。见图16A-B。ApoE4阳性群体(图17A-B)和轻度(MMSE 20-26)群体(图18A-B)内的簇集蛋白SNP的其它分析显示类似结果。

[0680] 尽管为了清楚理解的目的已经通过举例说明的方式较为详细地描述了上述发明,说明书和实施例不应解释为限制发明范围。通过援引明确收录本文中引用的所有专利申请和出版物和科学文献的完整公开内容用于任何目的。

[0681] 序列表索引

[0682]

SEQ ID NO:	序列
1	人A β 1-42氨基酸序列: DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA
2	克瑞珠单抗HVR-H1氨基酸序列: GFTFSSYGMS
3	克瑞珠单抗HVR-H2氨基酸序列: SINSNGGSTYYPDSVK
4	克瑞珠单抗HVR-H3氨基酸序列: GDY
5	克瑞珠单抗重链氨基酸序列(HVR区以粗体标示): EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYGMS WVRQAPGKG LELVA SINSNGGSTYYPDSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCAS GDY WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
6	克瑞珠单抗HVR-L1氨基酸序列: RSSQSLVYSNGDTYLH
7	克瑞珠单抗HVR-L2氨基酸序列: KVSNRFS
8	克瑞珠单抗HVR-L3氨基酸序列: SQSTHVPWT
9	克瑞珠单抗轻链氨基酸序列(HVR区以粗体和下划线标示): DIVMTQSPLSLPVTPGEPASIS <u>RSSQSLVYSNGDTYLH</u> WYLQKPG QSPQLLIY <u>KVSNRFS</u> GVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY <u>CSQSTHVPWT</u> FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSST LTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

<110> 基因泰克公司 (GENENTECH, INC.) 等

<120> 治疗阿尔茨海默氏病的方法

<130> P5696R2-W0

<140>

<141>

<150> 62/082,013

<151> 2014-11-19

<150> 62/010,265

<151> 2014-06-10

<150> 61/971,499

<151> 2014-03-27

<150> 61/937,472

<151> 2014-02-08

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 42

<212> PRT

<213> 人 (Homo sapiens)

<400> 1

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
1 5 10 15

[0001]

Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
20 25 30

Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
35 40

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 2

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Ser
1 5 10

<210> 3

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 3

Ser Ile Asn Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

<210> 4
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 4
 Gly Asp Tyr
 1

<210> 5
 <211> 438
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <221> 来源
 <223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 5
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val
 35 40 45

[0002] Ala Ser Ile Asn Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 115 120 125

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 130 135 140

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 165 170 175

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 180 185 190

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

	195	200	205
	Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro 210 215 220		
	Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys 225 230 235 240		
	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val 245 250 255		
	Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp 260 265 270		
	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 275 280 285		
	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp 290 295 300		
	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu 305 310 315 320		
	Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg 325 330 335		
[0003]	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys 340 345 350		
	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp 355 360 365		
	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys 370 375 380		
	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser 385 390 395 400		
	Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser 405 410 415		
	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser 420 425 430		
	Leu Ser Leu Ser Leu Gly 435		
	<210> 6		
	<211> 16		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<221> 来源		
	<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"		
	<400> 6		

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser Asn Gly Asp Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 7
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的肽"

<400> 8
Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 9
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 来源
<223> /注释="人工序列的描述: 合成的多肽"

<400> 9
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Asp Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

[0004]

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

[0005]

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

SEQ ID NO:1

1 DAEFRHDSGY EVHHQKLVFF AEDVGSNKGA IIGLMVGGVV IA

图1

HVR-H1 (SEQ ID NO:2): GFTFSSYGMS
 HVR-H2 (SEQ ID NO:3): SINSNGGSTYYPDSVK
 HVR-H3 (SEQ ID NO:4): GDY

HVR-L1 (SEQ ID NO:6): RSSQSLVYSNGDTYLH
 HVR-L2 (SEQ ID NO:7): KVSNRFS
 HVR-L3 (SEQ ID NO:8): SQSTHVPWT

图2

HC 序列 (SEQ ID NO:5)

1 EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGPTFS SYGMSWVRQA PGKGLELVA
 51 INSNGGSTYY PDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LOMNSLRAED TAVYYCASGD
 101 YWGQGTTTV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT
 151 VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTFPSSSLGT KTYTCNVDHK
 201 PSNTKVDKRV ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE
 251 VTCVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV
 301 LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM
 351 TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS
 401 RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLG

LC 序列 (SEQ ID NO:9)

1 DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCRSSQSLV YSNGDTYLHW YLQKPGQSPQ
 51 LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDGVV YYCSQSTHVP
 101 WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPPREAK
 151 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSTSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
 201 VTHQGLSSPV TKSFNREGC

图3

	IV (N=249)	
	安慰剂 (N=84)	克瑞珠单抗 (N=165)
AD的状态-并行药物使用		
n	84	165
无	11 (13.1%)	19 (11.5%)
仅AChEI	50 (59.5%)	96 (58.2%)
仅美金刚	2 (2.4%)	8 (4.8%)
AChEI和美金刚	21 (25.0%)	42 (25.5%)
ADAS-Cog12:轻度至中度		
n	84	163
均值 (SD)	27.08 (7.52)	28.87 (9.17%)
中值	28.50	28.33
最小 - 最大	12.7 - 52.0	7.3 - 55.0

图4A

	IV (N=249)	
	安慰剂 (N=84)	克瑞殊单抗 (N=165)
实际 Apoe4 结果		
n	84	165
E2/E3	2 (2.4%)	6 (3.6%)
E2/E4	4 (4.8%)	6 (3.6%)
E3/E3	22 (26.2%)	42 (25.5%)
E3/E4	39 (46.4%)	76 (46.1%)
E4/E4	17 (20.2%)	35 (21.2%)
APOE4 携带者		
n	84	165
阴性	24 (28.6%)	48 (29.1%)
阳性	60 (71.4%)	117 (70.9%)
MMSE 分布		
n	84	165
轻度 (20-26)	61 (72.6%)	121 (73.3%)
中度 (18-19)	23 (27.4%)	44 (26.7%)
筛选时的 MMSE 得分		
n	84	165
均值 (SD)	21.60 (2.51%)	21.85 (2.72%)
中值	22.00	22.00
最小 - 最大	18.0 - 26.0	16.0 - 26.0

图4B

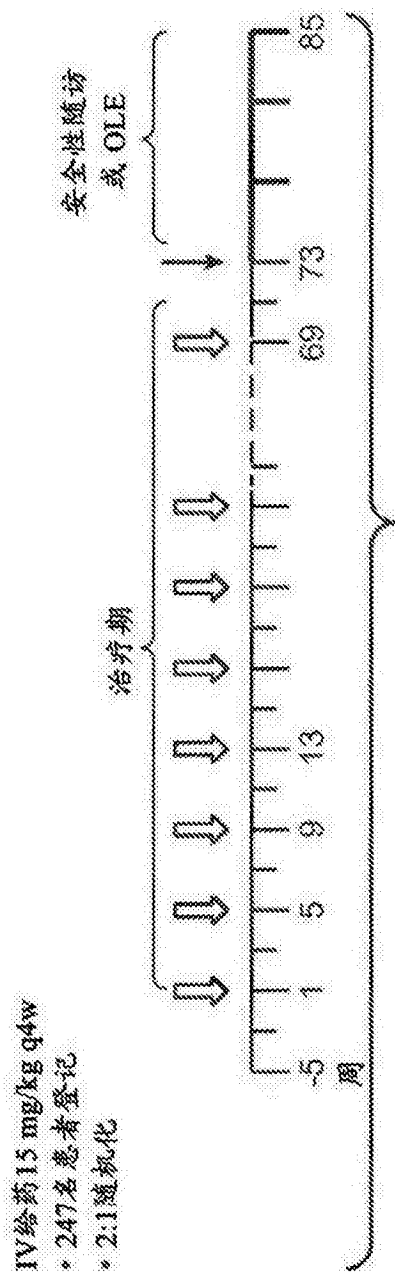


图5

IV小组ADAS-Cog12: 观察案例数据的第73周 MMRM 结果的汇总									
群体	第73周时的数目		安慰剂 LS 均值 (SE)变化得分	克瑞珠单抗 LS 均值 (SE)变化得分	差异			% 减少	
	安慰剂	克瑞珠单抗			LS 均值(SE)	80% CI	P 值		
M2M	64	122	10.85 (1.10)	9.07 (0.81)	1.78 (1.35)	0.04, 3.51	0.19	16%	
ApoE4 阴性	21	32	9.34 (2.04)	9.83 (1.59)	-0.50 (2.59)	-3.85, 2.86	0.849*	-5%	
APOE4 阳性	43	90	11.19 (1.29)	8.46 (0.91)	2.73 (1.58)	0.70, 4.77	0.086*	24%	
轻度	47	93	10.09 (1.22)	7.85 (0.90)	2.24 (1.47)	0.36, 4.13	0.128*	22%	
轻度和 ApoE4 阳性	31	68	9.89 (1.37)	6.68 (0.97)	3.21 (1.64)	1.08, 5.33	0.054*	32%	
中度	17	29	13.83 (2.38)	13.68 (1.89)	0.16 (2.99)	-3.74, 4.05	0.959*	1%	

* p值未针对多重性进行调整

图6A

IV小组ADAS-Cog12:观察案例数据的第73周 MMRM 结果的汇总									
MMSE 范围 (MITT的%)	第73周时的数目		安慰剂 LS 均值(SE) 变化得分	无端珠单抗 LS 均值(SE) 变化得分	差异			% 减少	ES (SD)
					LS 均值 (SE)	80% CI	P 值		
	安慰剂	无端珠单抗							
18-26 (100%)	64	122	10.56 (1.09)	8.79 (0.79)	1.78 (1.35)	0.04, 3.51	0.190	16.8%	0.20 (9.06)
19-26 (87%)	56	105	10.18 (1.15)	8.07 (0.84)	2.12 (1.42)	0.29, 3.95	0.139	20.80%	0.24 (8.89)
20-26 (74%)	47	93	9.43 (1.20)	7.18 (0.85)	2.24 (1.47)	0.36, 4.13	0.128	23.8%	0.27 (8.44)
21-26 (64%)	39	83	9.22 (1.30)	6.96 (0.90)	2.26 (1.58)	0.22, 4.30	0.157	24.5%	0.27 (8.40)
22-26 (54%)	33	70	9.70 (1.33)	6.26 (0.91)	3.44 (1.61)	1.36, 5.52	0.036	35.4%	0.44 (7.80)
23-26 (43%)	24	60	7.92 (1.44)	5.51 (0.91)	2.40 (1.70)	0.20, 4.60	0.163	30.30%	0.33 (7.18)
24-26 (32%)	16	45	7.41 (1.77)	4.58 (1.06)	2.83 (2.07)	0.15, 5.51	0.176	38.20%	0.39 (7.25)
25-26 (21%)	11	30	6.88 (2.13)	3.51 (1.31)	3.37 (2.50)	0.11, 6.63	0.185	49.00%	0.47 (7.21)

图6B

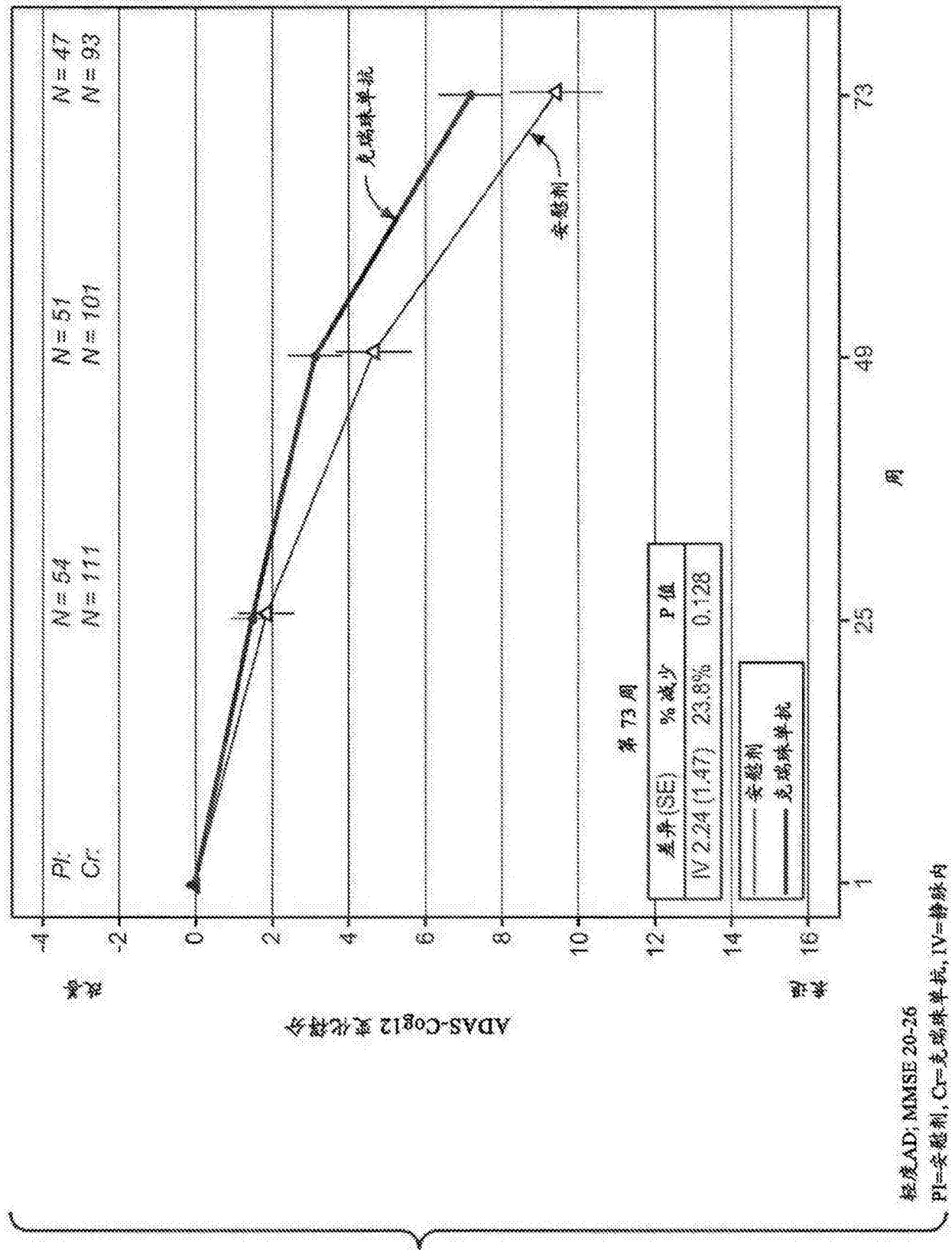


图7

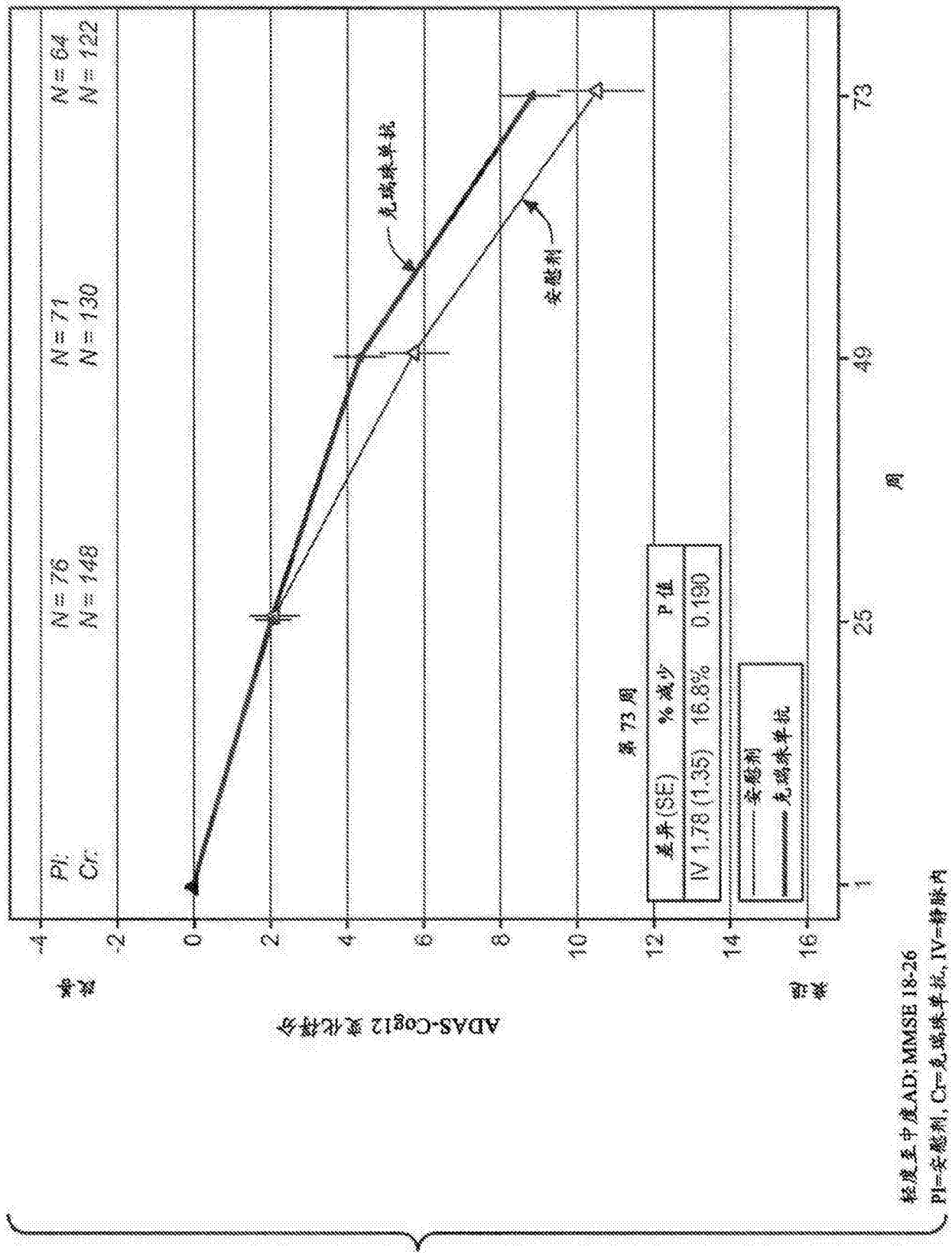


图8

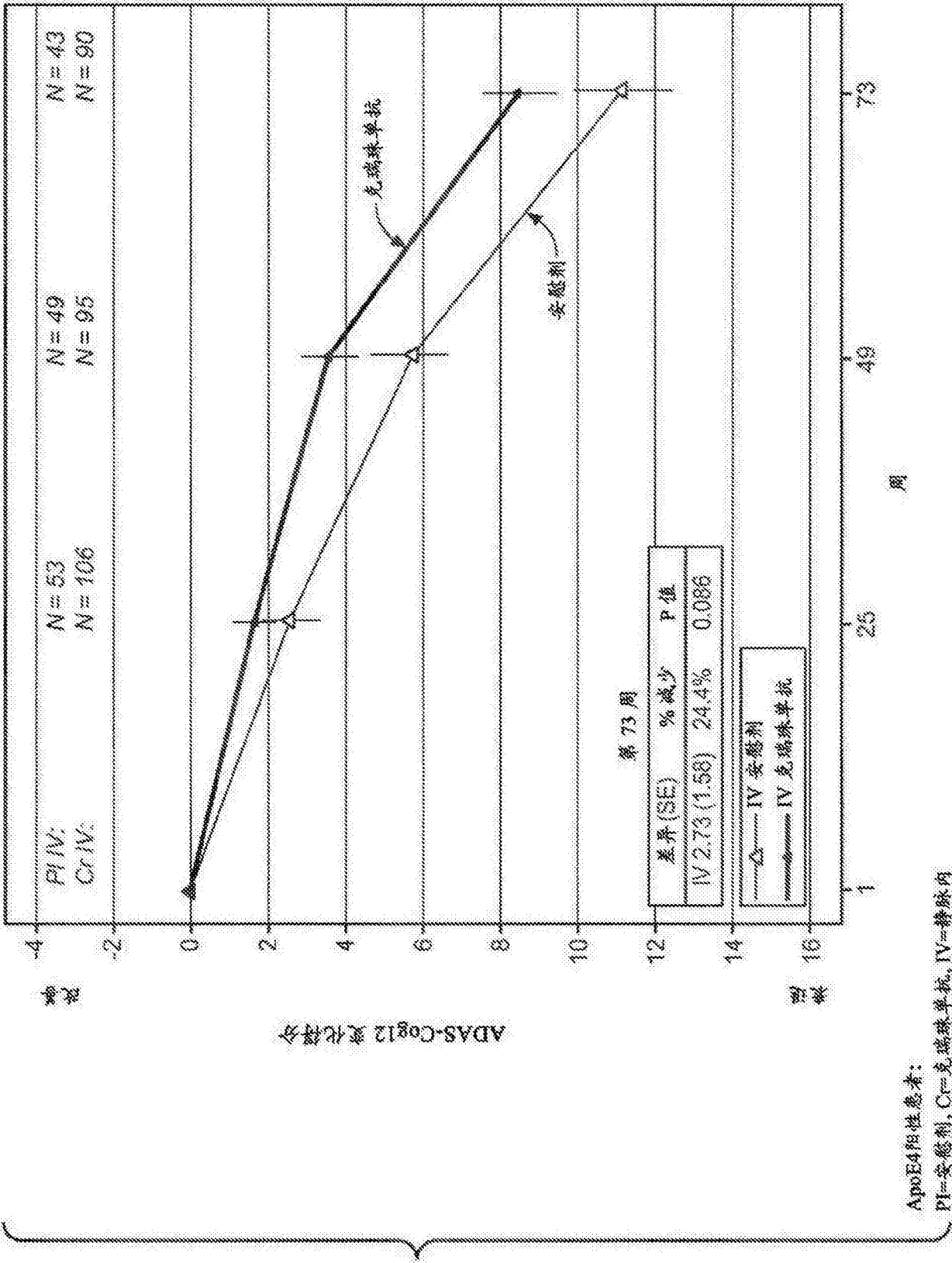


图9

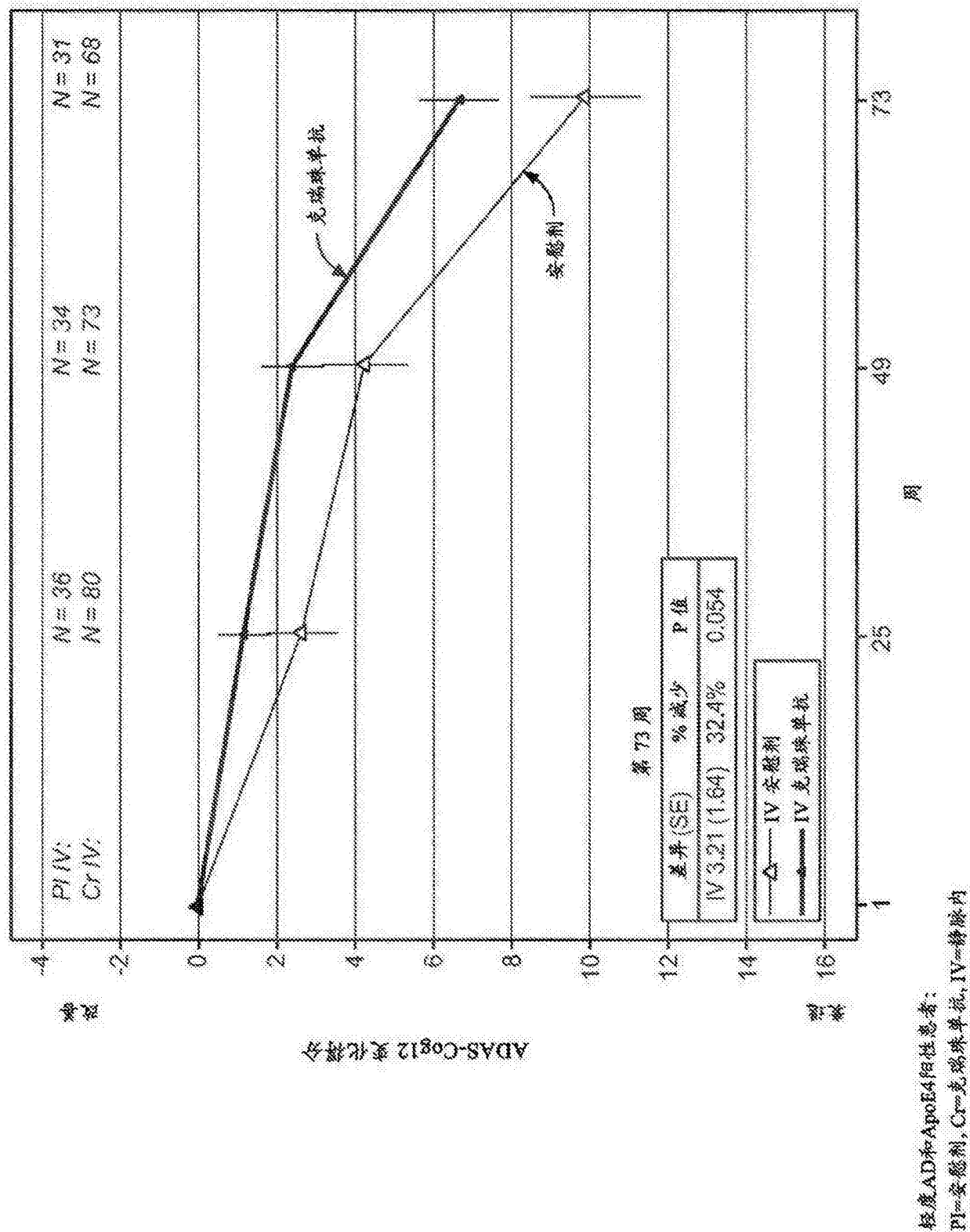


图10

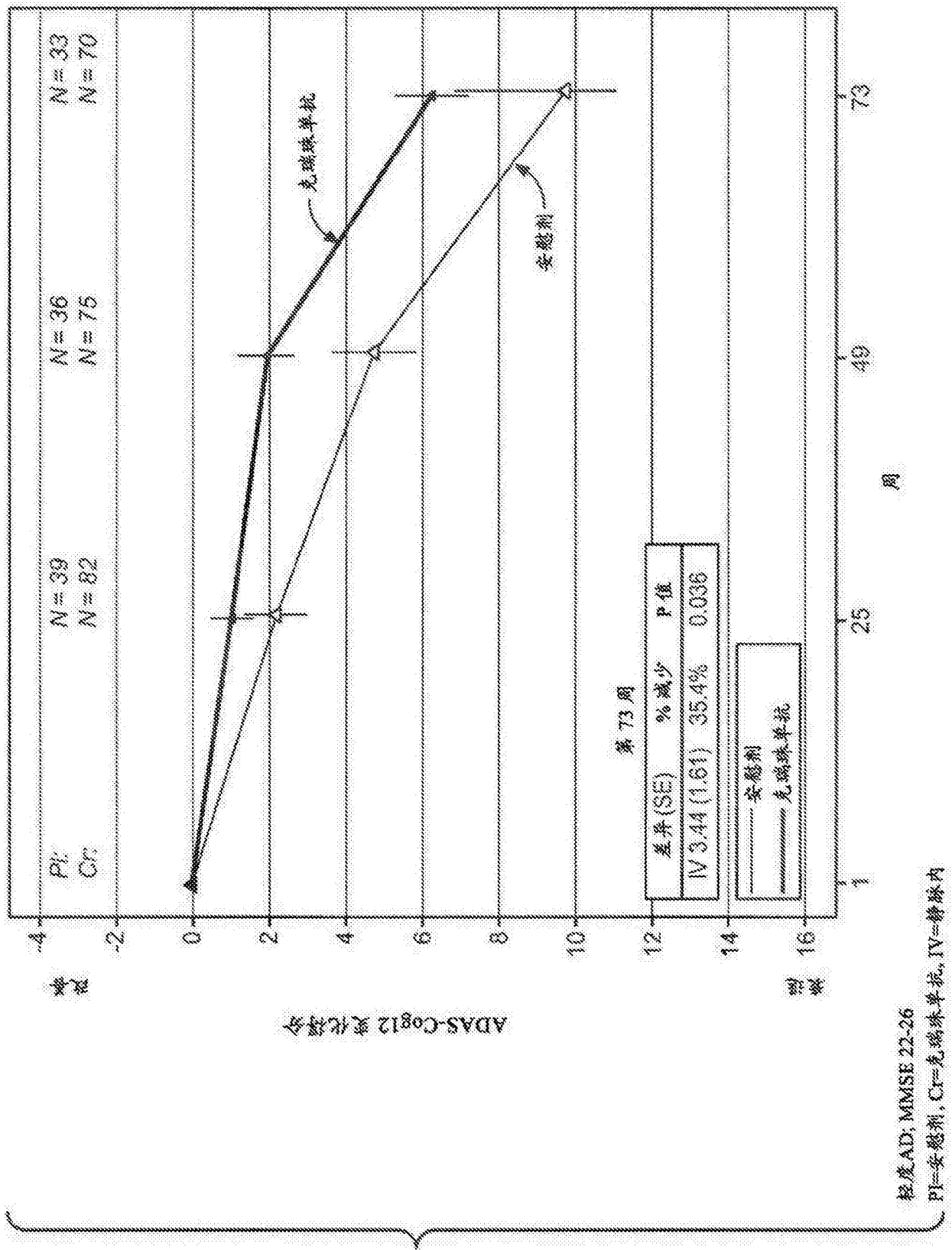


图11

IV小组CDR-SOB: 观察案例数据的第73周MMRM结果									
MMSE 范围 (MITT的%)	第73周时的数目		安慰剂 LS 均值(SE) 变化得分	克瑞珠单抗 LS 均值(SE) 变化得分	差异			% 减少	ES (SD)
	安慰剂	克瑞珠单抗			LS 均值 (SE)	80% CI	P 值		
18-26 (100%)	67	126	2.57 (0.35)	2.48 (0.25)	0.09 (0.43)	-0.46, 0.64	0.837	3.4%	0.03 (2.94)
19-26 (96%)	58	108	2.65 (0.38)	2.43 (0.28)	0.22 (0.47)	-0.39, 0.83	0.641	8.30%	0.07 (3.02)
20-26 (74%)	48	96	2.18 (0.40)	2.21 (0.28)	-0.02 (0.49)	-0.66, 0.61	0.964	-1.0%	-0.01 (2.91)
21-26 (64%)	40	85	2.26 (0.45)	2.16 (0.31)	0.10 (0.54)	-0.60, 0.81	0.848	4.6%	0.04 (2.98)
22-26 (54%)	34	71	2.24 (0.45)	1.80 (0.31)	0.44 (0.55)	-0.27, 1.14	0.423	19.6%	0.16 (2.75)
23-26 (42%)	24	60	1.88 (0.45)	1.48 (0.28)	0.40 (0.53)	-0.28, 1.08	0.449	21.40%	0.18 (2.25)
24-26 (31%)	16	45	1.87 (0.45)	1.02 (0.27)	0.85 (0.52)	0.16, 1.53	0.114	45.40%	0.46 (1.85)
25-26 (20%)	11	30	1.95 (0.44)	0.71 (0.27)	1.24 (0.52)	0.56, 1.92	0.022	63.60%	0.83 (1.50)

图12A

CDR-SOB 总的							CDR-SOB 判断和解决问题				CDR-SOB 记忆		
MMSE	N (Plc)	N (Cre)	Δ (SE)	Δ %	ES (SD)	P	Δ (SE)	Δ %	P	Δ (SE)	Δ %	P	
18-26	67	126	0.09 (0.43)	3.4%	0.03 (2.94)	0.837	0.02 (0.08)	5.7%	0.790	0.08 (0.08)	18.2%	0.311	
20-26	48	96	-0.02 (0.49)	-1.0%	0.01 (2.91)	0.964	0.06 (0.09)	16.1%	0.517	0.09 (0.09)	21.7%	0.346	
22-26	34	71	0.44 (0.55)	19.6%	0.16 (2.75)	0.423	0.12 (0.10)	29.9%	0.236	0.16 (0.10)	42.7%	0.124	

图12B

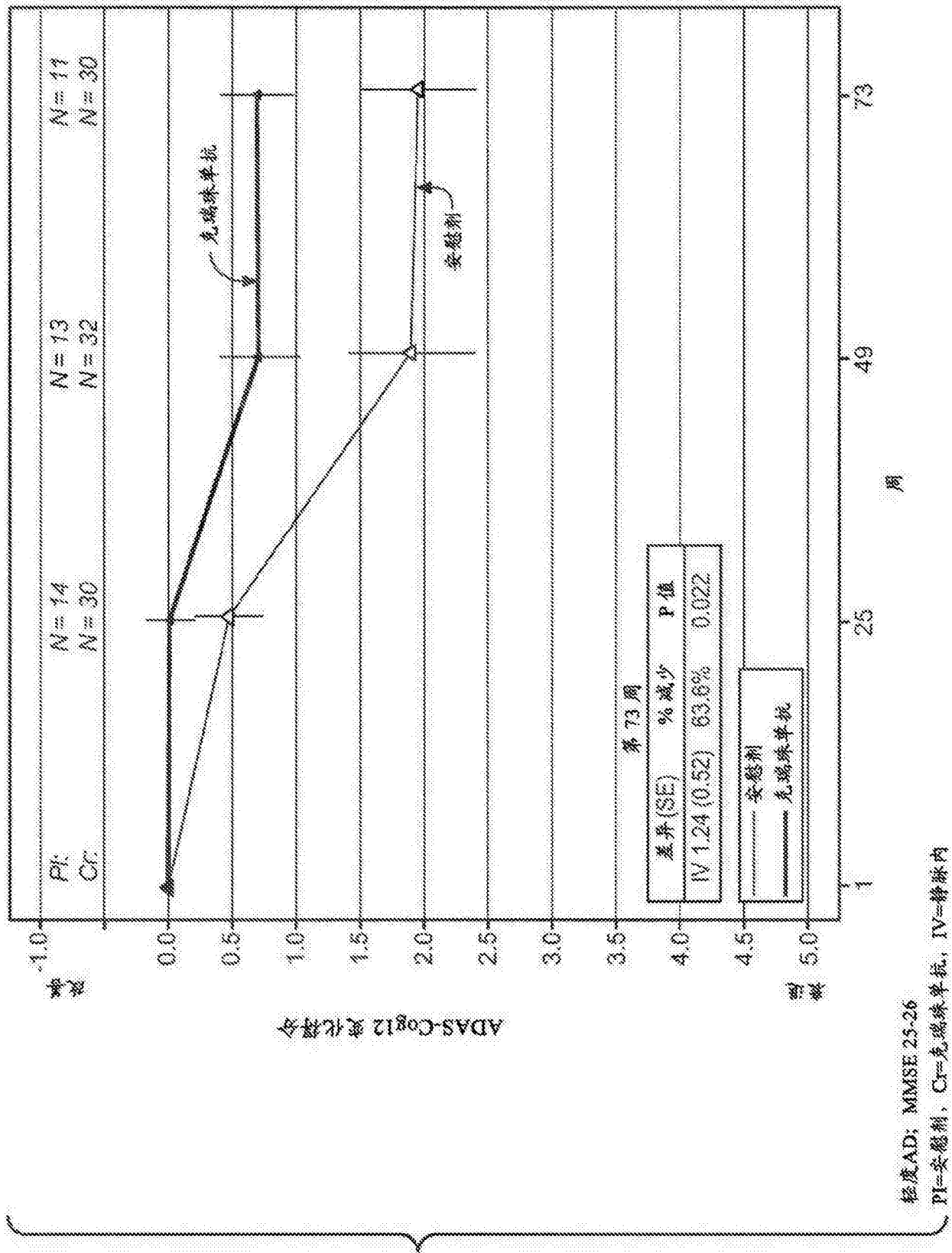


图13

	15 mg/kg IV q4w	
	安慰剂	克瑞珠单抗
基线	N=17	N=35
年龄	69.8 (7.7)	71.4 (7.1)
女性 %	35.3%	68.6%
MMSE	20.5 (2.2)	20.8 (2.3)
MMSE 20-26 (轻度)	58.8%	60.0%
APOE4 携带者	70.6%	68.6%
ADAS-Cog12	34.51 (11.13)	31.21 (9.88)
CDR-SOB	5.9 (1.9)	4.9 (2.0)
ADCS-ADL	64.5 (8.2)	66.8 (7.4)
SUVR (小脑灰质参照)	1.77 (0.31)	1.74 (0.28)
使用 AChEI 和/或美金刚	82.4%	91.4%
完成治疗	10 (58.8%)	21 (60.0%)
中止研究	7 (41.2%)	14 (40.0%)
死亡	0	2 (5.7%)
不良事件	3 (17.6%)	1 (2.9%)
受试者退出	3 (17.6%)	8 (22.9%)
其他	1 (5.9%)	3 (8.6%)

图14A

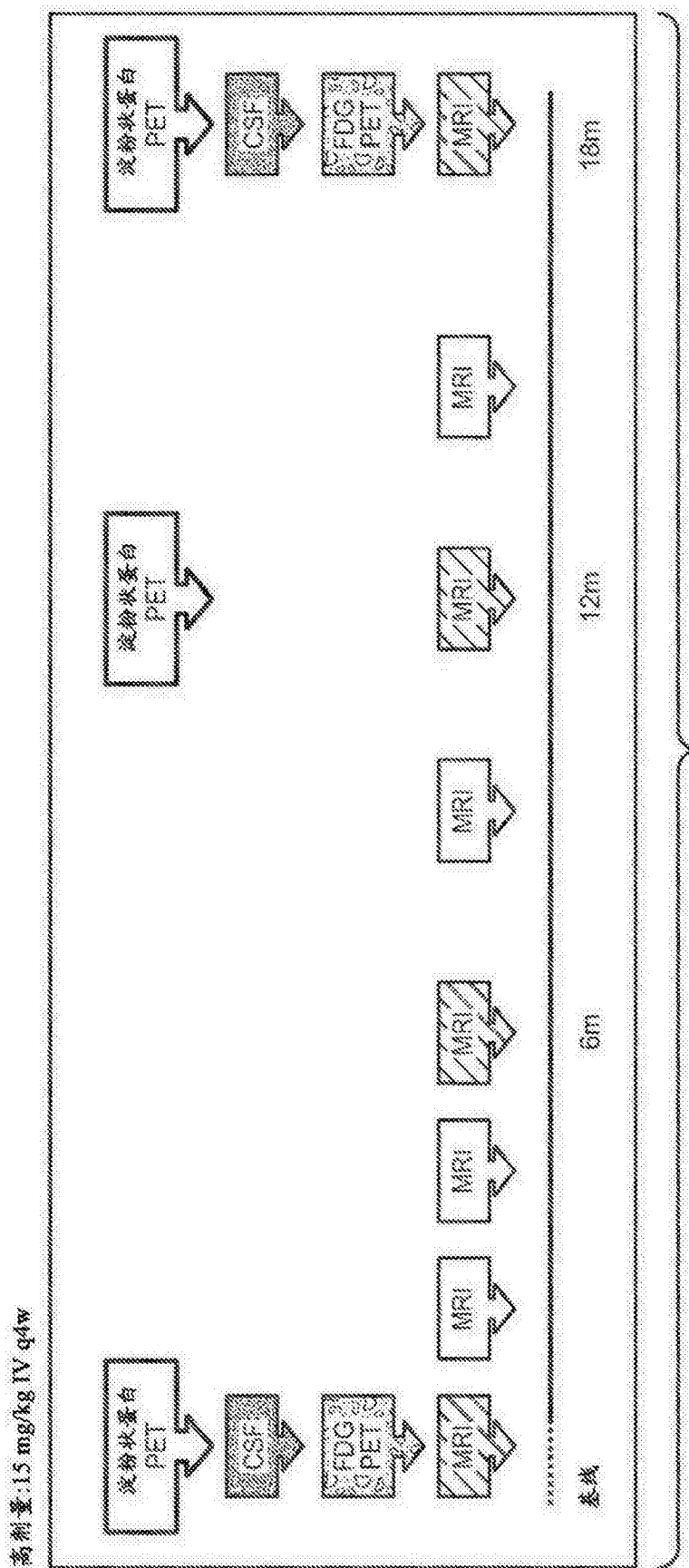


图14B

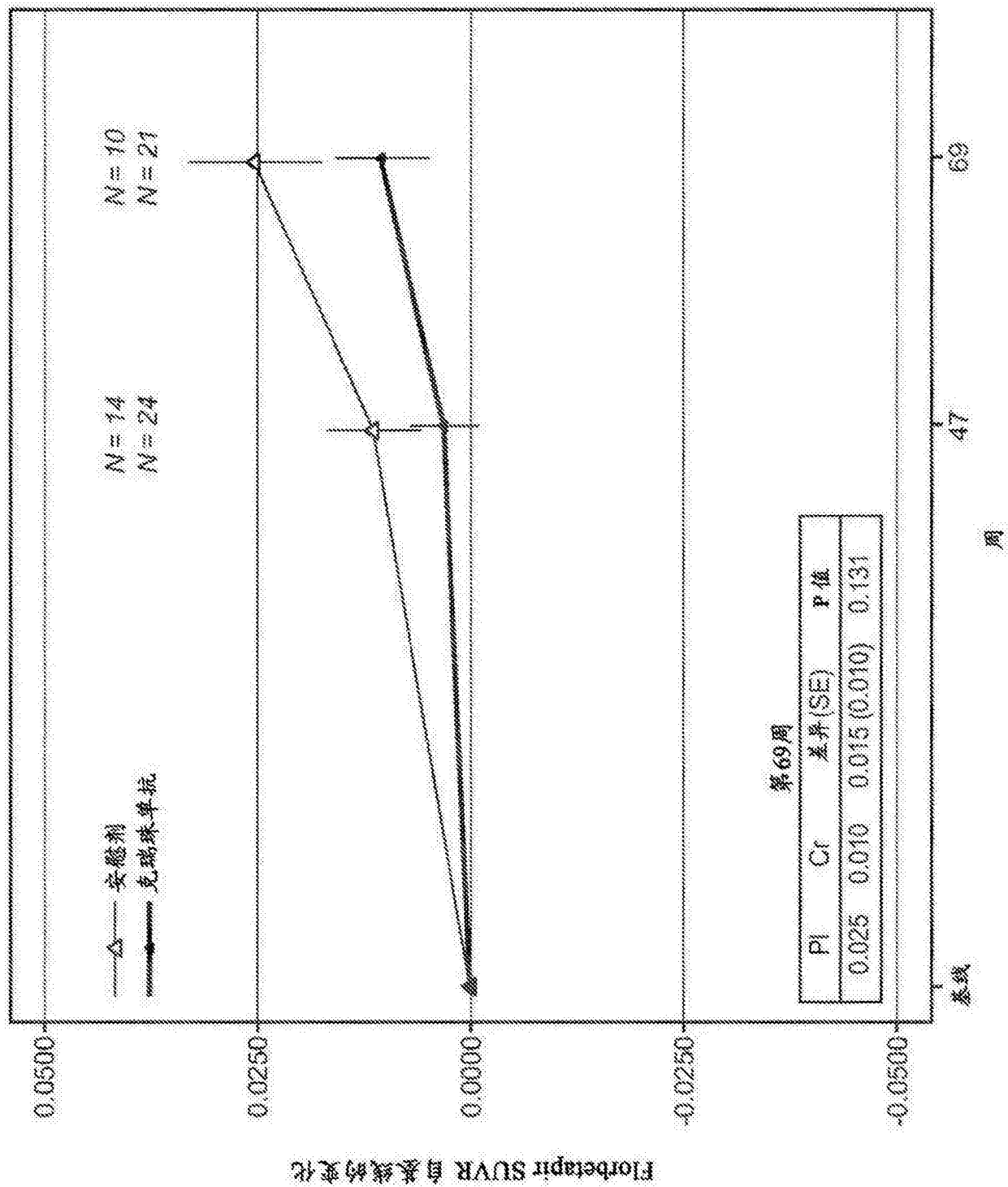


图15A

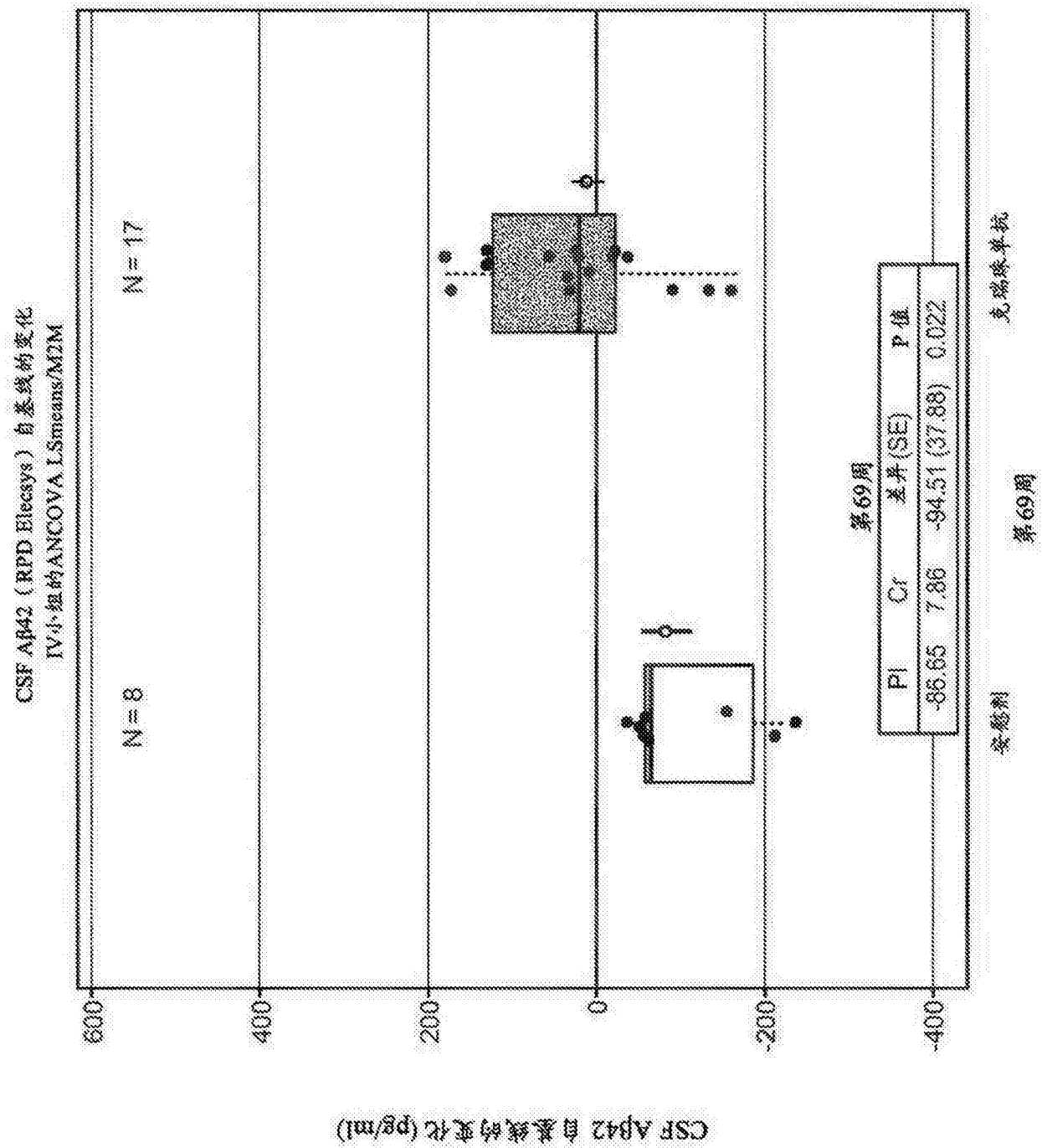


图15B

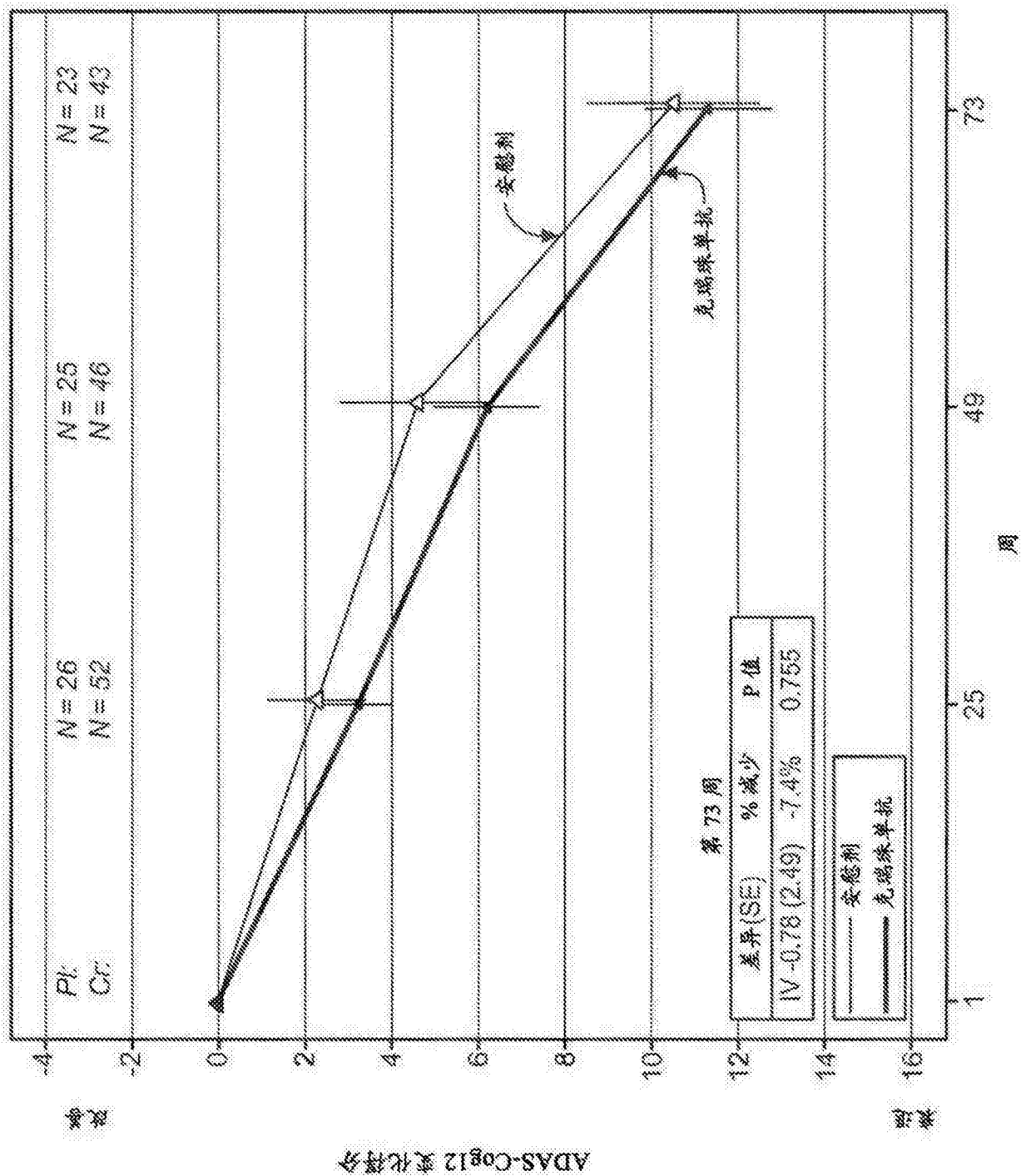


图16A

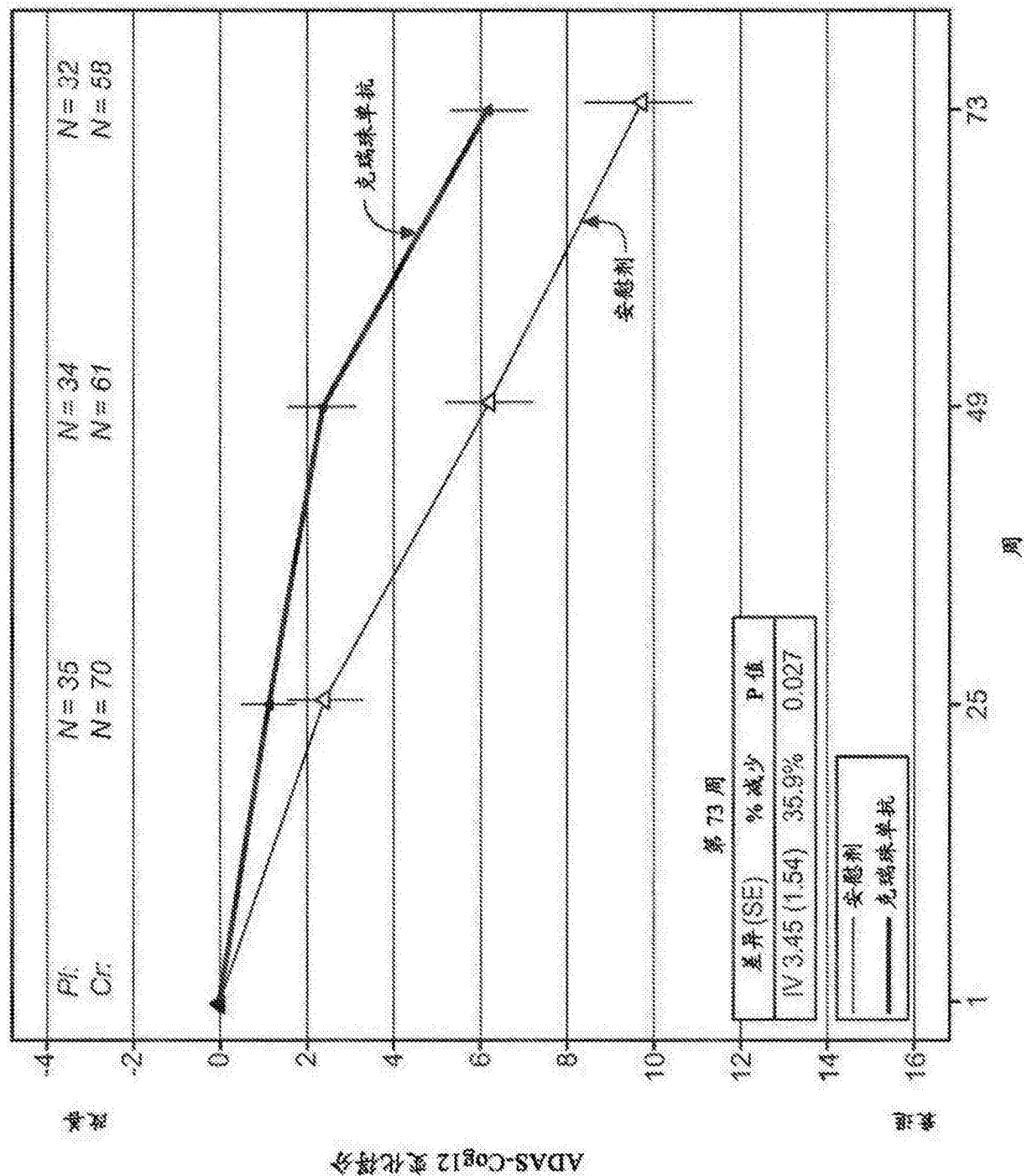


图16B

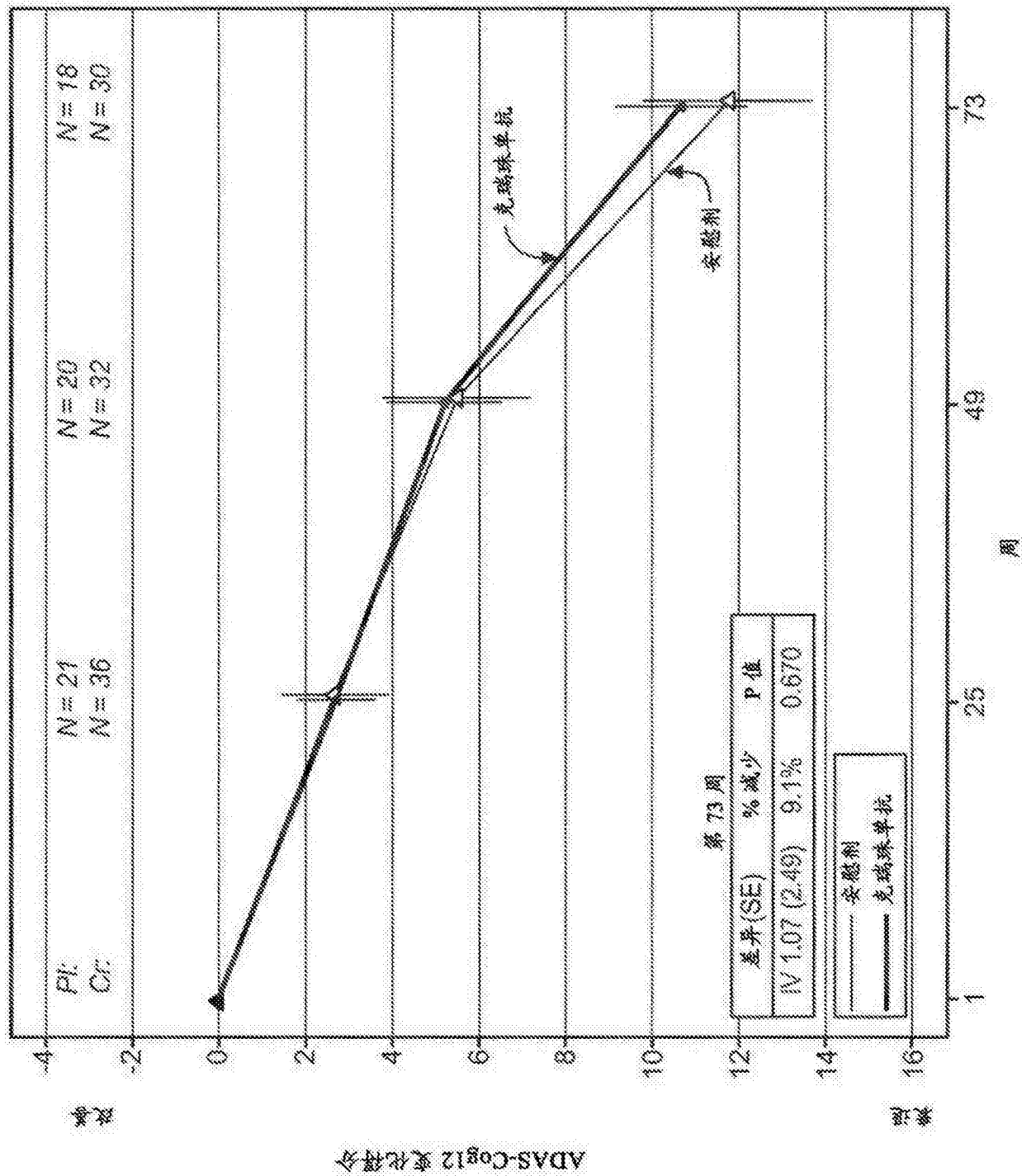


图17A

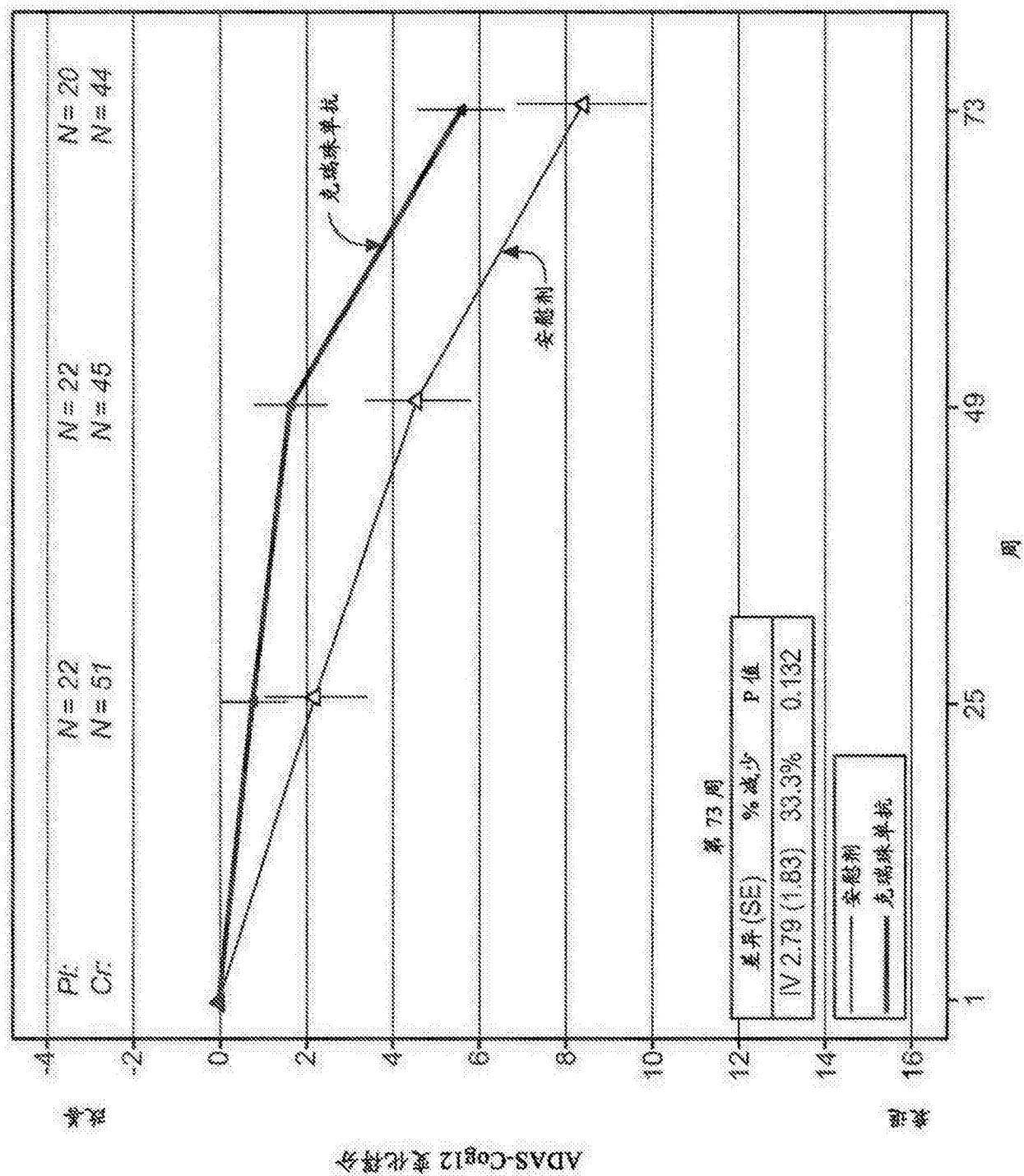


图17B

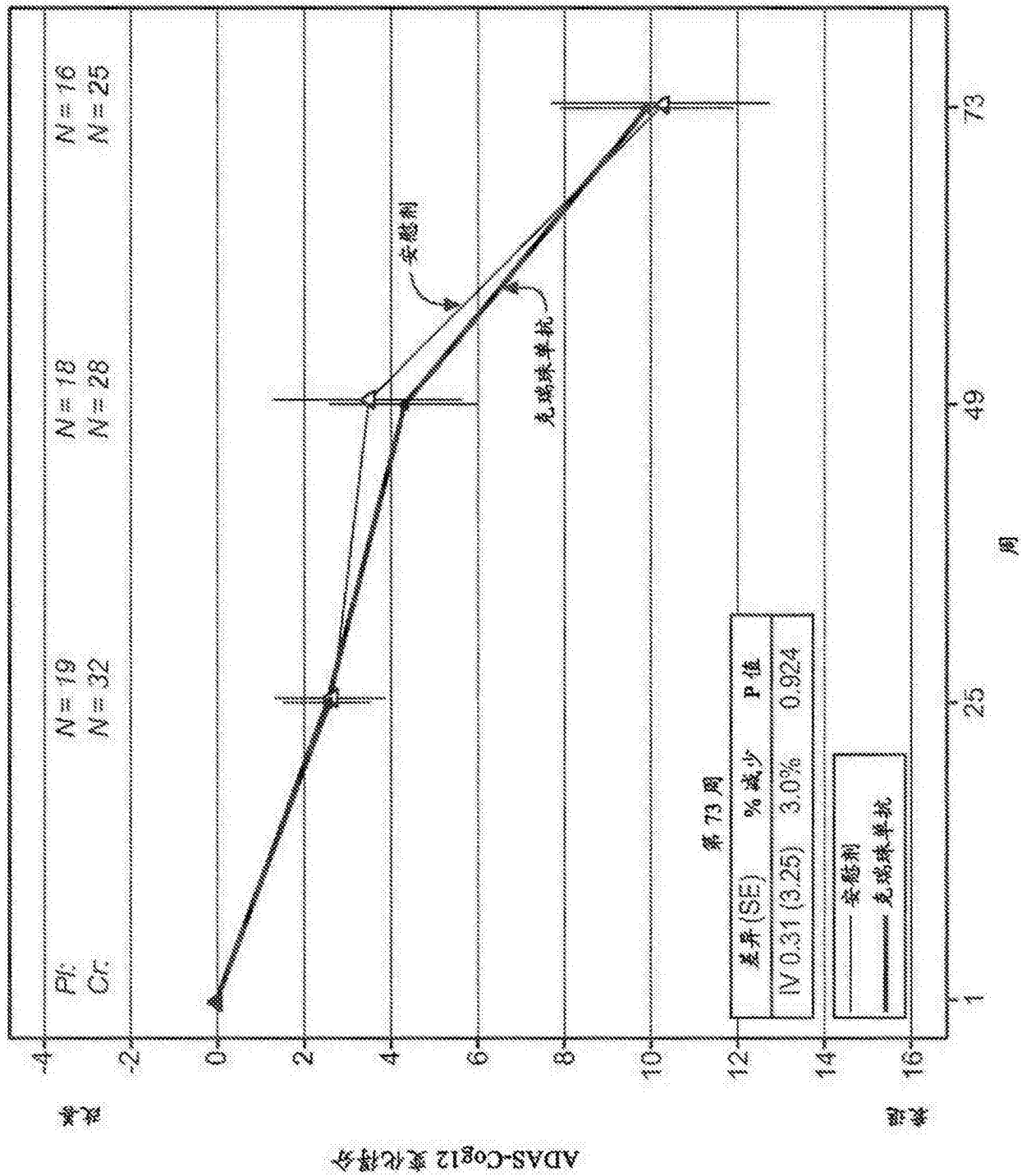


图18A

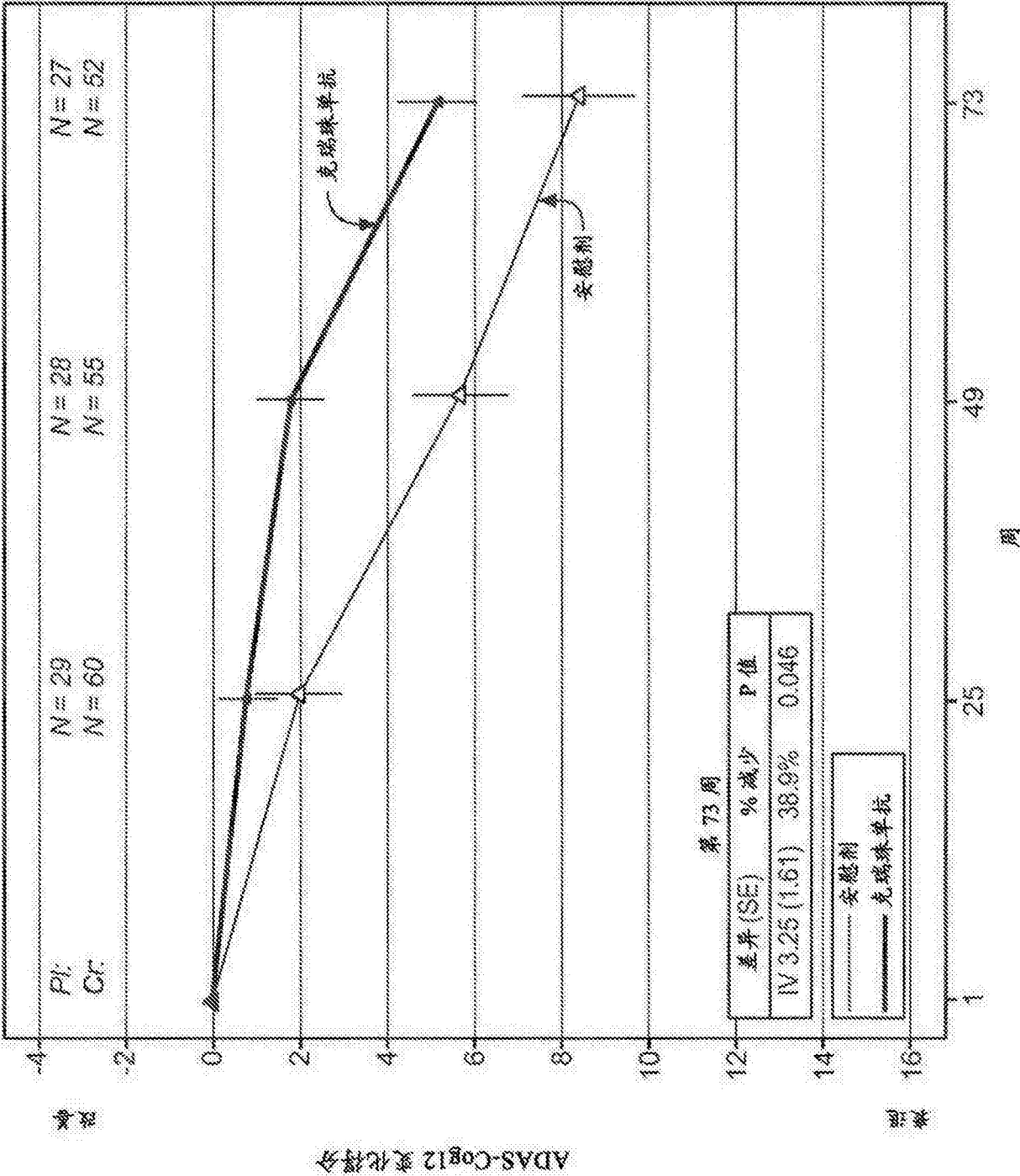


图18B